



Papillomavirus humains et néoplasies intra-épithéliales vulvaires : prévalence et corrélation aux données anatomo-cliniques sur une série de 40 cas

Sophie Mazellier

► To cite this version:

Sophie Mazellier. Papillomavirus humains et néoplasies intra-épithéliales vulvaires : prévalence et corrélation aux données anatomo-cliniques sur une série de 40 cas. Médecine humaine et pathologie. 2014. dumas-01206076

HAL Id: dumas-01206076

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01206076>

Submitted on 28 Sep 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Sophie MAZELLIER

**Papillomavirus humains et
néoplasies intra-épithéliales vulvaires**

Prévalence virale et corrélation
aux données anatomo-cliniques
sur une série de 40 cas

Nice 2014

UNIVERSITE DE NICE-SOPHIA-ANTIPOLIS
FACULTE DE MEDECINE DE NICE

Papillomavirus humains et néoplasies intra-épithéliales vulvaires

Prévalence virale et corrélation
aux données anatomo-cliniques
sur une série de 40 cas

Thèse d'exercice de médecine
Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Nice

Le 11 septembre 2014

Par Sophie MAZELLIER,
née le 12 décembre 1985 à Marseille

Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Jean-François MICHIELS
Monsieur le Professeur André BONGAIN
Madame le Professeur Valérie GIORDANENGO
Monsieur le Professeur Thierry PASSERON
Monsieur le Docteur Damien AMBROSETTI

Président du jury
Assesseur
Assesseur
Assesseur
Directeur de thèse

UNIVERSITÉ DE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS

FACULTÉ DE MÉDECINE

Liste des professeurs au **1er novembre 2013** à la Faculté de Médecine de Nice

Doyen

M. BAQUÉ Patrick

Assesseurs

M. BOILEAU Pascal
M. HÉBUTERNE Xavier
M. LEVRAUT Jacques

Conservateur de la bibliothèque

M. SCALABRE Grégory

Chef des services administratifs

Mme CALLEA Isabelle

Doyens Honoraires

M. AYRAUD Noël
M. RAMPAL Patrick
M. BENCHIMOL Daniel

Professeurs Honoraires

M. BALAS Daniel
M. BLAIVE Bruno
M. BOQUET Patrice
M. BOURGEON André
M. BOUTTÉ Patrick
M. BRUNETON Jean-Noël
Mme BUSSIERE Françoise
M. CHATEL Marcel
M. COUSSEMENT Alain
M. DAR COURT Guy
M. DELMONT Jean
M. DEMARD François
M. DOLISI Claude
M. FREYCHET Pierre
M. GÉRARD Jean-Pierre
M. GILLET Jean-Yves
M. GRELLIER Patrick
M. HAR TER Michel
M. INGLES AKIS Jean-André
M. LALANNE Claude-Michel
M. LAMBERT Jean-Claude
M. LAPALUS Philippe
M. LAZDUNSKI Michel
M. LEFEBVRE Jean-Claude
M. LE BAS Pierre
M. LE FICHOUX Yves
M. LOUBIERE Robert
M. MARIANI Roger

M. MASSEYEFF René
M. MATTEI Mathieu
M. MOUIEL Jean
Mme MYQUEL Martine
M. OLLIER Amédée
M. ORTONNE Jean-Paul
M. SCHNEIDER Maurice
M. TOUBOL Jacques
M. TRAN Dinh Khiem
M. ZIEGLER Gérard

M.C.A. Honoraire

Mlle ALLINE Madeleine

M.C.U. Honoraires

M. ARNOLD Jacques
 M. BASTERIS Bernard
 Mlle CHICHMANIAN Rose-Marie
 M. EMILIOZZI Roméo
 M. GASTAUD Marcel
 M. GIRARD-PIPAU Fernand
 M. GIUDICELLI Jean
 M. MAGNÉ Jacques
 Mme MEMRAN Nadine
 M. MENGUAL Raymond
 M. POIRÉE Jean-Claude
 Mme ROURE Marie-Claire

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	AMIEL Jean	Urologie (52.04)
M.	BENCHIMOL Daniel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	CAMOUS Jean-Pierre	Thérapeutique (48.04)
M.	DARCOURT Jacques	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	DELLAMONICA Pierre	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	DESNUELLE Claude	Biologie Cellulaire (44.03)
Mme	EULLER-ZIEGLER Liana	Rhumatologie (50.01)
M.	FENICHEL Patrick	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FRANCO Alain	Gériatrie et Biologie du vieillissement (53.01)
M.	FUZIBET Jean-Gabriel	Médecine Interne (53.01)
M.	GASTAUD Pierre	Ophtalmologie (55.02)
M.	GILSON Éric	Biologie Cellulaire (44.03)
M.	GRIMAUD Dominique	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	HASSEN KHODJA Reda	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	HÉBUTERNE Xavier	Nutrition (44.04)
M.	HOFMAN Paul	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	LACOUR Jean-Philippe	Dermato-Vénéréologie (50.03)
Mme	LEBRETON Élisabeth	Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique (50.04)
M.	MICHIELS Jean-François	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	PRINGUEY Dominique	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	QUATREHOMME Gérald	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	SANTINI Joseph	O.R.L. (55.01)
M.	THYSS Antoine	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	VAN OBBERGHEN Emmanuel	Biochimie et Biologie Moléculaire (44.01)

PROFESSEURS PREMIERE CLASSE

M.	BATT Michel	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	BÉRARD Étienne	Pédiatrie (54.01)
M.	BERNARDIN Gilles	Réanimation Médicale (48.02)
M.	BOILEAU Pascal	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	BONGAIN André	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
Mme	CRENESSE Dominique	Physiologie (44.02)
M.	DE PERETTI Fernand	Anatomie-Chirurgie Orthopédique (42.01)
M.	DRICI Milou-Daniel	Pharmacologie Clinique (48.03)
M.	ESNAULT Vincent	Néphrologie (52.03)
M.	FERRARI Émile	Cardiologie (51.02)
M.	GIBELIN Pierre	Cardiologie (51.02)

M.	GUGENHEIM Jean	Chirurgie Digestive (52.02)
Mme	ICHAI Carole	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	LONJON Michel	Neurochirurgie (49.02)
M.	MARQUETTE Charles-Hugo	Pneumologie (51.01)
M.	MARTY Pierre	Parasitologie et Mycologie (45.02)
M.	MOUNIER Nicolas	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	MOUROUX Jérôme	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	PADOVANI Bernard	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	PAQUIS Philippe	Neurochirurgie (49.02)
Mme	PAQUIS Véronique	Génétique (47.04)
M.	RAUCOULES-AIMÉ Marc	Anesthésie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
Mme	RAYNAUD Dominique	Hématologie (47.01)
M.	ROBERT Philippe	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	ROSENTHAL Éric	Médecine Interne (53.01)
M.	SCHNEIDER Stéphane	Nutrition (44.04)
M.	TRAN Albert	Hépatogastro-entérologie (52.01)

PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE

M.	ALBERTINI Marc	Pédiatrie (54.01)
Mme	ASKENAZY-GITTARD Florence	Pédopsychiatrie (49.04)
M.	BAHADORAN Philippe	Cytologie et Histologie (42.02)
M.	BAQUÉ Patrick	Anatomie - Chirurgie Générale (42.01)
M.	BARRANGER Emmanuel	Gynécologie Obstétrique (54.03)
M.	BENIZRI Emmanuel	Chirurgie Générale (53.02)
Mme	BLANC-PEDEUTOUR Florence	Cancérologie – Génétique (47.02)
M.	BREAUD Jean	Chirurgie Infantile (54.02)
Mlle	BREUIL Véronique	Rhumatologie (50.01)
M.	CANIVET Bertrand	Médecine Interne (53.01)
M.	CARLES Michel	Anesthésiologie Réanimation (48.01)
M.	CASSUTO Jill-Patrice	Hématologie et Transfusion (47.01)
M.	CASTILLO Laurent	O.R.L. (55.01)
M.	CHEVALLIER Patrick	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	DUMONTIER Christian	Chirurgie plastique
M.	FERRERO Jean-Marc	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	FOURNIER Jean-Paul	Thérapeutique (48.04)
M.	FREDENRICH Alexandre	Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques (54.04)
Mlle	GIORDANENGO Valérie	Bactériologie-Virologie (45.01)
M.	GUÉRIN Olivier	Gériatrie (48.04)
M.	HANNOUN-LEVI Jean-Michel	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	IANNELLI Antonio	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	JOURDAN Jacques	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	LEVRAUT Jacques	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	PASSERON Thierry	Dermato-Vénéréologie (50.03)
M.	PICHE Thierry	Gastro-entérologie (52.01)
M.	PRADIER Christian	Épidémiologie, Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	ROGER Pierre-Marie	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROHRLICH Pierre	Pédiatrie (54.01)
M.	RUIMY Raymond	Bactériologie-virologie (45.01)
M.	SADOUL Jean-Louis	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
M.	STACCINI Pascal	Biostatistiques et Informatique Médicale (46.04)
M.	THOMAS Pierre	Neurologie (49.01)
M.	TROJANI Christophe	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	VENISSAC Nicolas	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

M.	SAUTRON Jean-Baptiste	Médecine Générale
----	-----------------------	-------------------

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ALUNNI-PERRET Véronique	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	AMBROSETTI Damien	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BANNWARTH Sylvie	Génétique (47.04)
M.	BENOLIEL José	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	BERNARD-POMIER Ghislaine	Immunologie (47.03)
Mme	BUREL-VANDEBOS Fanny	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	DELOTTE Jérôme	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
M.	DOGLIO Alain	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	DONZEAU Michèle	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FOSSE Thierry	Bactériologie-Virologie-Hygiène (45.01)
M.	FRANKEN Philippe	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	GARRAFFO Rodolphe	Pharmacologie Fondamentale (48.03)
Mme	HINAULT Charlotte	Biochimie et biologie moléculaire (44.01)
Mlle	LANDRAUD Luce	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	LEGROS Laurence	Hématologie et Transfusion (47.01)
Mme	MAGNIÉ Marie-Noëlle	Physiologie (44.02)
Mme	MUSSO-LASSALLE Sandra	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	NAÏMI Mourad	Biochimie et Biologie moléculaire (44.01)
M.	PHILIP Patrick	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	POMARES Christelle	Parasitologie et mycologie (45.02)
Mlle	PULCINI Céline	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROUX Christian	Rhumatologie (50.01)
M.	TESTA Jean	Épidémiologie Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	TOULON Pierre	Hématologie et Transfusion (47.01)

PROFESSEURS ASSOCIÉS

M.	DIOMANDE Mohenou Isidore	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	HOFLIGER Philippe	Médecine Générale
M.	MAKRIS Démosthènes	Pneumologie
M.	PITTET Jean-François	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
Mme	POURRAT Isabelle	Médecine Générale

MAITRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Mme	CHATTI Kaouthar	Biophysique et Médecine Nucléaire
M.	GARDON Gilles	Médecine Générale
Mme	MONNIER Brigitte	Médecine Générale
M.	PAPA Michel	Médecine Générale

PROFESSEURS CONVENTIONNÉS DE L'UNIVERSITÉ

M.	BERTRAND François	Médecine Interne
M.	BROCKER Patrice	Médecine Interne Option Gériatrie
M.	CHEVALLIER Daniel	Urologie
Mme	FOURNIER-MEHOUAS Manuella	Médecine Physique et Réadaptation
M.	QUARANTA Jean-François	Santé Publique

Remerciements

Aux membres de mon jury

A Monsieur le Professeur Michiels

Je vous suis très reconnaissante de la dévotion que vous portez à toutes vos belettes et de votre profonde gentillesse. Je tâcherai de ne pas oublier vos nombreux enseignements vespéraux. Je suis fière d'avoir été votre interne. Recevez à travers ce travail ma plus profonde gratitude.

A Madame le Professeur Giordanengo

Vous avez toujours fait preuve d'une grande disponibilité. Votre aide a été précieuse. J'ai grandement apprécié vos qualités humaines et professionnelles. Je suis très honorée que vous ayez accepté de juger ce travail de thèse.

A Monsieur le Professeur Bongain

Vous me faites l'honneur de votre présence au sein du jury de cette thèse. Je vous remercie d'avoir accepté si spontanément de juger mon travail. Recevez ma plus grande considération.

A Monsieur le Professeur Passeron

Je vous suis très reconnaissante d'avoir accepté de faire partie de ce jury. J'ai beaucoup apprécié vos qualités pédagogiques et votre constant sourire pendant mon semestre passé en dermatologie. Soyez assuré de mon plus profond respect.

A Monsieur le Docteur Ambrosetti

Tu as su me guider dans l'élaboration de ce travail mais aussi pendant tout mon internat. Le meilleur assistant du monde. Même lorsque nos opinions divergent (non ne le dis pas !), tu restes d'une infinie patience. Merci.

Aux médecins et ingénieurs qui ont contribué à ce travail

Docteur Anne Chevallier Travailler avec vous, toujours dans la bonne humeur, a été un réel plaisir. Vos connaissances et votre tendance à toujours approfondir les choses sont très appréciables. J'ai hâte de revenir dans votre équipe.

Docteur Nathalie Cardot-Peccia Merci de me transmettre avec toujours beaucoup de clarté tes connaissances en dermatopathologie. Merci aussi pour les fous rires. J'espère qu'on rigolera toujours autant quand je serai ton assistante...

Docteur Christophe Perrin Pour vos connaissances encyclopédiques.

Céline Loubatier Ingénieur géniale, disponible, patiente, marrante, gentille et j'en passe.

Sébastien Ingénieur de substitution, tu as quand même bien assuré. Un grand merci pour ton aide.

Docteur Isabelle Cannavo Je te remercie de t'être investie si chaleureusement dans ce travail.

Docteur Kathlène Angeli. Pour votre apport à la partie clinique et iconographique.

Aux médecins qui ont contribué à ma formation

Docteur Marie-Christine Saint Paul Pour toutes ces heures passées au multi-tête. Je vous dois beaucoup.

Docteur Fanny Vandebos Pour ton humanité, ta gentillesse et ta rigueur.

Docteur Maxime Benchetrit Tu dis toujours « oui avec plaisir ! » et ça fait plaisir.

Docteur Marjorie Piche Tu n'hésites pas à donner de ton temps au multi-tête comme en salle de pause pour de longues discussions.

Docteur Agnès Rampal Merci d'avoir contribué à ma formation en cytologie.

Docteur Anne Sudaka Pour votre compagnonnage assidu et notre bonne entente.

Docteur Isabelle Peyrottes Pour votre confiance, qui m'a fait gagner en autonomie.

Docteur Francette Ettore J'ai beaucoup apprécié mon cours cursus en votre compagnie.

Docteur Juliette Haudebourg Tu te préoccupes du bien-être de tes internes et es toujours là pour nous donner un coup de main. Merci.

Docteur Myriam Marcy Tu m'as énormément appris en peu de temps, merci pour ta patience face à mes questions plus ou moins intelligentes.

Monsieur le Professeur Hofman Merci de partager avec vos internes vos connaissances en infectiologie.

Docteur Véronique Hofman Tu sais transmettre ton savoir avec indulgence et bienveillance.

Docteur Catherine Butori Votre goût pour l'enseignement est manifeste. Merci.

Docteur Sandra Lassalle Merci d'avoir partagé tes connaissances en ophtalmologie et en ORL.

Docteur Elodie Long D'humeur toujours égale et d'une grande modestie.

Docteur Marius Ilie Toujours disponible et d'une grande rigueur.

Monsieur le Professeur Lacour J'ai été ravie d'avoir eu la chance d'apprendre la clinique dans votre service.

Monsieur le Professeur Bahadoran Soyez assuré de mon respect.

Docteur Pascal Del Giudice Merci pour votre accueil chaleureux. J'espère pouvoir bientôt travailler pour vous.

Docteur Thomas Hubiche Pour ta sympathie lors de mon semestre varois.

A tous les techniciens, techniciennes et secrétaires du LCAP, de l'Archet, du CAL et du LPCE qui par leur humanité et leur professionnalisme rendent cette spécialité encore plus agréable.

Avec une pensée spéciale pour **Mahjouba, Mamie, Magali, Stéphanie** et **Elena** qui m'ont soutenue pendant mes moments de doute, de colère et ont contribué à ce travail.

A ma famille

A la bête Merci pour ta compréhension pendant toutes ces années de travail acharné. Je suis très heureuse à tes côtés. J'espère t'apporter autant que ce que tu me donnes. « You know what I'm sayin' ? ».

A ma mère Ton amour inconditionnel me porte tous les jours. Je n'aurais pas pu y arriver sans ton soutien quotidien. Avec tout mon amour, merci.

A mon père Merci d'avoir toujours cru en moi pendant mes moments de doute et d'avoir été à l'écoute de mes angoisses nocturnes durant mes gardes. Je t'aime.

A ma sœur Ma meilleure amie. Tu me manques quand même si loin.

A mes grands-parents Papi Michel et mamie Lucienne merci pour tous ces magnifiques souvenirs.

A mon **oncle Patrick**, ma **tante Corinne**, ma cousine **Mélanie**, mon cousin **Thomas**

A ma belle-famille Merci pour votre accueil chaleureux. Je suis heureuse de faire partie des Zaïgouche.

A mes amies anapath. On s'est tellement bien trouvées. Je vous aime les meufs :

Zoé Je suis très heureuse d'avoir passé ces semestres en ta compagnie. On aura bien ri ensemble autour de la « piscine ».

Bérangère Ne sois pas jalouse que j'aie mis Zoé en premier. Tu restes parfaite!

Julie Engagée, joyeuse, et même sportive (si si) avec en prime un sens de l'amitié en or.

Stéphanie La plus humble, drôle et sympa des assistantes.

Sans oublier **Mélanie**, **Coraline**, **Julien** et **Caroline**.

A mes amies dermato.

Nouran On a vécu tellement ensemble. Ta gentillesse te perdra. J'attends avec impatience la prochaine soirée au Ranch avec Coco.

Catherine Adorable tête en l'air.

Marine Merci pour tes avis éclairés (de Marc L'étoile) sur les restos, la mode et la morphologie.

Virginie T'es partie trop loin. Reste un peu!

Carole Quels souvenirs en Martinique! Merci pour ton enthousiasme et ta bonne humeur constante.

Mais aussi **Katerina**, **Alexandra**, **Fériel**, **Yona**, **Sophie**, **Emilie**, **Solo**, **Momen**, **Huda**, **Emeline**, **Laura**, **Florence** et **Henri**.

A mes meilleures amies marseillaises pour ces longues années d'amitié et nos week-ends glowy !

Nausicaa Dommage que tu ne sois pas sur Nice, on ne sait pas si on porte toujours les mêmes robes. T'es quand même la plus sexy du groupe. Toujours pétillante et avec le sourire!

Nathalie Je garde un excellent souvenir de nos sous-colles et toutes ces heures de travail chez toi. Gentille et douce, garde aussi ton côté farfelu, j'adore.

Eve La plus girly d'entre toutes. Faut qu'on se voit plus souvent, tes trucs et astuces beauté me manquent. L'amour des chats nous unira toujours!

Sarah J'espère passer encore de longues années à écouter tes histoires sans fin ponctuées de ton sourire colgate.

Sandrine Même si la distance et ton internat surchargé nous ont un peu éloignées, je ne t'ai pas oubliée.

Liste des abréviations

ACE : Antigène carcino-embryonnaire
 AIN : Néoplasie intra-épithéliale anale
 ADN : Acide désoxyribonucléique
 ARN : Acide ribonucléique
 ASCH : *Atypical squamous cells cannot exclude high grade*
 ASCUS : *Atypical squamous cells of undetermined significance*
 CDK : Kinases cyclines dépendantes
 CIN : Néoplasie intra-épithéliale cervicale
 dATP : désoxy-adénide tri-phosphate
 dGTP : désoxy-guanine tri-phosphate
 dNTP : désoxyribonucléotide tri-phosphate
 dUTP : désoxy-uracile tri-phosphate
 E6AP : Protéine associée à E6
 FCU : Frottis cervico-utérin
 HE : Hématoxyline éosine
 HES : Hématoxyline-éosine-safran
 HPV : Papillomavirus humain
 HPV BR : Papillomavirus humain de bas risque
 HPV HR : Papillomavirus humain de haut risque
 HPV RI : Papillomavirus humain de risque intermédiaire
 ISSVD : *International society for the Study of Vulvo-vaginal Diseases*
 LMIEBG : Lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade
 LMIEHG : Lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade
 OMS : Organisation mondiale de la santé
 PCR : *Polymerase chain reaction*
 SSM : *Superficial spreading melanoma*
 UDG : *Uracil-DNA-Glycosylase*
 TPHA VDRL : *Treponema pallidum hemagglutininations Assay Venereal disease research laboratory*
 VAIN : Néoplasie intra-épithéliale vaginale
 VHB : Virus de l'hépatite B
 VHC : Virus de l'hépatite C
 VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
 VIN : Néoplasie intra-épithéliale vulvaire

Introduction

1. HPV

1.1. Taxonomie et structure

Les papillomavirus humains sont des petits virus à ADN, non enveloppés, à tropisme épithélial, qui infectent spécifiquement les épithéliums malpighiens. Ils appartiennent à la famille des *Papillomaviridae*. Ils ont une capside icosaédrique de 45 à 55 nm de diamètre, formée de 72 capsomères.

1.2. Génome viral

Le génome d'HPV est une molécule d'ADN bicaténaire circulaire d'environ 8 000 paires de bases. Un seul des 2 brins est codant.

3 régions du génome viral sont individualisées (Figure 1) :

- une région précoce E (*Early*) codant pour des protéines non structurales, les protéines précoces E1 à E8, impliquées dans la réplication, la transcription, la maturation du virion et la transformation cellulaire.
- une région tardive L (*Late*) codant pour les protéines L1 et L2 formant la capside, déterminants antigéniques spécifiques de genre (communs à tous les HPV) et de type.
- une région régulatrice LCR (*Long Control Region*), non codante, contenant les promoteurs des gènes précoces et des séquences intervenant dans la régulation de la réplication et de la transcription virale.

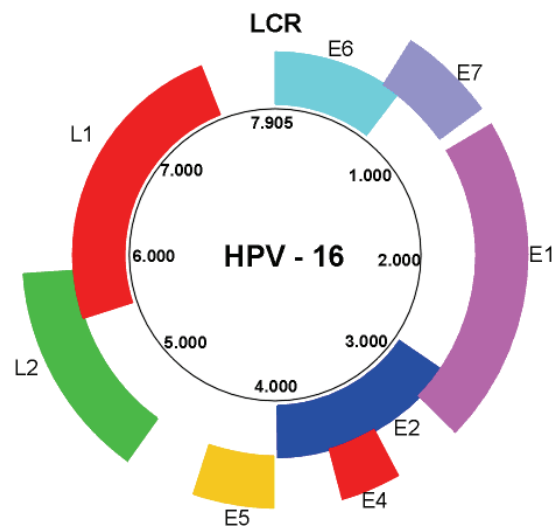


Figure 1. Génome du papillomavirus d'après ENS Lyon.

Les rôles des principales protéines du virus sont résumés dans le tableau 1.

Protéines virales	Rôles
E1	Réplication virale, maintien du génome sous forme épisomale
E2	Réplication virale, régulation négative de la transcription
E4	Encapsidation du génome, maturation des virions, interaction avec les ARN hélicases
E5	Interaction avec le récepteur de EGF, activation de PDGF, activité transformante
E6	Amplification des génomes viraux, liaison de la protéine p53 immortalisante et transformante
E7	Amplification des génomes viraux, liaison de la protéine du rétinoblastome immortalisante et transformante
L1	Protéine majeure de capsid indispensable à la formation des particules virales
L2	Protéine mineure de capsid

Tableau 1. Rôle des principales protéines du virus HPV.

1.3. Classifications

1.3.1. Classification phylogénétique

Les papillomavirus sont classés en fonction de leur homologie de séquence nucléotidique du gène L1 (Figure 3).¹

- Un nouveau génotype est identifié lorsqu'il existe une homologie de moins de 90% dans la séquence du gène L1 avec les génotypes déjà décrits.
- Un nouveau sous-type est identifié lorsqu'il existe une homologie de séquence entre 90 et 98%. Il est nommé a, b...
- Une différence de moins de 2% définit un variant.

Plus de 120 génotypes d'HPV ont été identifiés.²

1.3.2. Classification en fonction du tropisme tissulaire

Ils peuvent aussi être classés en fonction de leur tropisme malpighien :

- HPV à tropisme cutané (HPV 1, 2, 3)
- HPV à tropisme muqueux. Une trentaine présente un tropisme génital (HPV 6, 11, 16). Ils sont alors essentiellement transmis par voie sexuelle.

1.3.3. Classification en fonction du risque oncogénique

Cette classification épidémiologique est basée sur la fréquence des génotypes viraux retrouvés dans les cancers du col de l'utérus.³

- HPV de bas risque (HPV BR) (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81).
- HPV de haut risque (HPV HR) (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82)
- HPV de risque intermédiaire (HPV RI) (26, 34, 53, 57, 66, 83) de potentiel oncogénique incertain

1.4. Epidémiologie

Les principaux facteurs de risque d'une infection HPV ont été largement étudiés, les plus grandes études concernant les lésions cervicales utérines. Ce sont :

- l'âge jeune 20 à 29 ans
- le statut socio-économique bas
- le nombre de partenaires sexuels élevé et une activité sexuelle précoce.⁴ L'utilisation systématique du préservatif ne protège que partiellement du risque de transmission.⁵
- le tabagisme⁶
- l'immunodépression par le VIH⁷ et les traitements immunosuppresseurs⁸

L'infection à HPV est ubiquitaire. L'HPV est largement répandu dans la population. Dans l'étude de Sellors, la prévalence la plus élevée est observée dans le groupe des 20-24 ans (24%).⁹

La transmission des HPV muqueux se fait par contact direct ou indirect (par desquamation de cellules infectées). La plupart du temps, l'infection à HPV est complètement asymptomatique et transmise par des porteurs sains.

Le délai d'incubation est de 3 semaines à 1 mois.¹⁰

La prévalence et la distribution des types d'HPV varient en fonction de l'âge et de la région géographique.¹¹

Les HPV BR sont responsables de lésions bénignes comme les condylomes ou les verrues.

Les HPV HR sont susceptibles d'induire des cancers. L'infection persistante par un HPV HR est le principal facteur de risque de lésion génitale de haut grade.¹²

Les génotypes rarement détectés dont on ne peut déterminer le potentiel oncogénique sont classés en HPV RI.

Données essentielles

Le papillomavirus présente un tropisme malpighien, cutané ou muqueux.

Un type d'HPV est défini par une homologie de séquence du gène L1 de plus de 90%.

Les HPV HR sont identifiés par leur potentiel oncogénique dans le cancer du col.

L'infection génitale à HPV atteint particulièrement les femmes jeunes et est reliée à l'activité sexuelle.

Sa prévalence dans la population générale est très élevée jusqu'à 24% à 20 ans.

La plupart du temps l'infection est asymptomatique.

1.5. Cycle de réplication

1.5.1. Inoculation

Les HPV se caractérisent par une spécificité d'hôte étroite et un tropisme exclusivement épithélial. Par le biais de microlésions tissulaires, ils infectent spécifiquement les cellules de la couche basale des épithéliums malpighiens. Les virions adhèrent à ces cellules par l'intermédiaire des héparanes sulfates. L'entrée du virus dans la cellule se fait par endocytose, médiée par les vésicules à clathrine pour l'HPV 16 ou par les cavéoles pour l'HPV 31.¹³ Puis le virus migre vers le noyau en utilisant les microtubules pour se déplacer dans le cytosol. Il y subit un désassemblage de sa capside. L'ADN viral est ainsi libéré dans sa forme épisomale.

1.5.2. Infection latente et productive

Le cycle réplcatif de ces virus peut être productif ou latent. L'ADN viral peut persister à l'état latent sous forme épisomale. Sous l'influence de facteurs endogènes comme l'immunodépression, ou exogènes, l'infection devient productive. Le cycle viral est étroitement lié à la différenciation des kératinocytes¹⁴ (Figure 2).

Au cours de la phase S, non productive, seuls les gènes précoces sont traduits. Le virus se réplique lors de la division des cellules basales sous l'action combinée des protéines virales E1 et E2 et des protéines cellulaires. Les cellules basales se différencient ensuite en migrant vers les couches suprabasales^①.

Les cellules suprabasales normales ne sont plus en cycle. Les cellules suprabasales infectées par HPV entrent de nouveau en cycle sous l'action des protéines E6 et E7 (dont le gène se trouve sous forme épisomale). Cela permet la poursuite de la réplication virale^②. Ce phénomène entraînera une expansion clonale des cellules infectées, sans production de virions. Il est responsable du papillome ou du condylome.

La phase transcriptionnelle tardive débute avec le processus de différenciation des cellules^③. Elle correspond à la synthèse des protéines de structure virale L1 et L2, permettant l'encapsidation du génome viral^④. Cette phase aboutit à l'assemblage de nouvelles particules virales, produisant les virions. L'infection virale productive se traduit par un effet cytopathogène caractéristique : la koïlocytose. Le koïlocyte est pathognomonique de l'infection à HPV.

Le cycle viral des papillomavirus n'étant pas lytique, les cellules infectées poursuivent leur différenciation. Les nouveaux virions, ainsi complets, sont libérés dans l'environnement lors de la desquamation des kératinocytes^⑤. Lors de cette infection productive, la production virale est importante dans les verrues plantaires et les condylomes génitaux, et en général absente dans les lésions dysplasiques.¹⁴

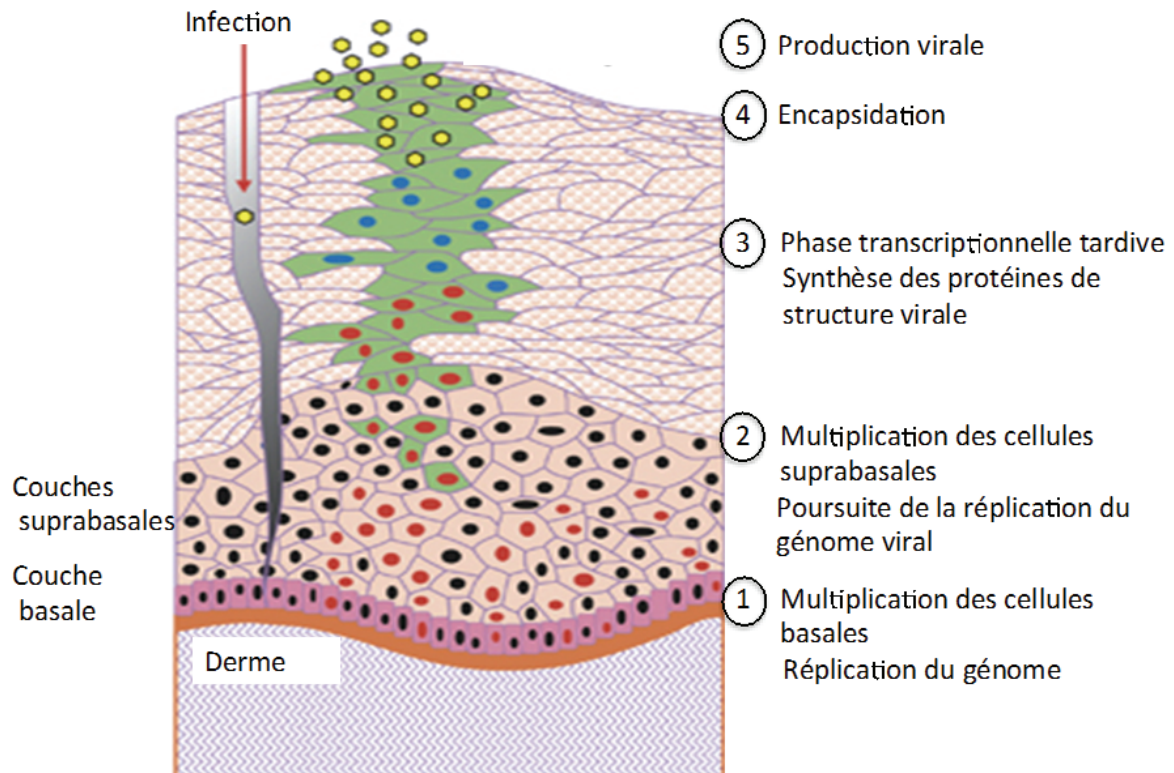


Figure 2. Cycle de réplication viral (modifié d'après Thomas).¹⁵

1.6. Mécanismes moléculaires de la cancérogénèse induite par HPV

La proportion de cas de carcinomes épidermoïdes présumés liés à HPV correspond à 100% des cancers du col de l'utérus, 90% des cancers de l'anus, 40% des cancers de la sphère génitale extra-utérine (vulve, vagin, pénis) et 12% des cancers de l'oropharynx.¹⁶

L'infection à HPV est le plus souvent transitoire. Dans les lésions de bas grade, le génome viral est sous forme épisomale et les produits des gènes E6 et E7 sont faiblement exprimés. Dans la plupart des lésions de haut grade et dans les carcinomes invasifs, le génome viral est intégré au génome de la cellule hôte et les produits des gènes E6 et E7 sont fortement exprimés.¹⁷ L'intégration du génome viral est aléatoire mais a pour conséquence la persistance virale.

1.6.1. Oncoprotéine virale E2

Contrairement aux rétrovirus, l'HPV ne possède pas d'intégrase. L'intégration de son ADN au génome de la cellule hôte ne joue aucun rôle dans le cycle viral normal. L'intégration de l'ADN viral concerne uniquement les HPV HR. Elle ne peut se faire qu'au niveau de sites fragiles, où les cassures double brin de l'ADN viral sont plus fréquentes. Le plus souvent, cette intégration interrompt le gène E2 et conduit à la production d'une protéine E2 mutée, car tronquée. Cette protéine E2 mutée n'est plus capable d'assurer la régulation négative de la transcription des gènes E6 et E7. Les gènes E6 et E7, oncogènes viraux, interfèrent sur de nombreuses voies de signalisation cellulaire. Ils entraînant une inhibition de la différenciation cellulaire et une transformation des cellules ainsi infectées. L'intégration de l'ADN viral est observée dans la grande majorité des lésions de haut grade et dans la plupart des cancers invasifs du col utérin.¹⁴ Les ARN messagers E6 et E7 détectés par hybridation *in situ* sont présents en quantité importante dans les lésions dysplasiques de haut grade et les carcinomes du col utérin.²

1.6.2. Oncoprotéine virale E6

L'oncoprotéine virale E6 des HPV HR induit une dégradation de la protéine p53 suppresseur de tumeur.

En cas de stress, l'activation de la p53 par phosphorylation ou acétylation provoque un arrêt du cycle cellulaire en phase G1. Si l'ADN cellulaire est altéré, p53 active la transcription du gène GADD45 réparant les lésions ADN. Si les dommages sont trop importants, p53 active la transcription de gènes de la famille Bcl-2 et de la famille APAF-1 impliqués respectivement dans les voies intrinsèques et extrinsèques de l'apoptose.¹⁸

La protéine E6 se lie à la protéine E6AP (*E6 associated protein*), une ubiquitine ligase, puis à p53. Ce complexe ternaire favorise l'ubiquitination et la dégradation dans le protéasome de p53.¹⁹

1.6.3. Oncoprotéine virale E7

1.6.3.1. Voie de la protéine du rétinoblastome (Figure 3)

La progression du cycle cellulaire chez les eucaryotes est assurée par les protéines kinases dépendantes des cyclines (CDK). La fonction des CDK est la phosphorylation de certaines protéines cibles et tout particulièrement la protéine du rétinoblastome (pRb). Dans sa forme active, la pRb est couplée au facteur de transcription E2F. Le complexe cycline D/CDK4-6 phosphoryle la pRb, ce qui la rend inactive et libère E2F. La libération de E2F permet la transcription de gènes conduisant à la synthèse de protéines impliquées dans le passage de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire. La pRb empêche donc la progression du cycle. C'est une protéine suppresseur de tumeur.²

La protéine p16^{INK4A} appartient à la famille des inhibiteurs des CDK4. La p16 se lie spécifiquement à CDK4-6. Cela empêche la phosphorylation de la pRb qui reste activée et donc bloque le cycle cellulaire. La p16 est donc un facteur de régulation négatif de la prolifération cellulaire.²⁰ L'interaction entre la p16, cycline D/CDK4-6 et pRb/E2F constitue une unité fonctionnelle connue sous le nom de voie de la pRb.

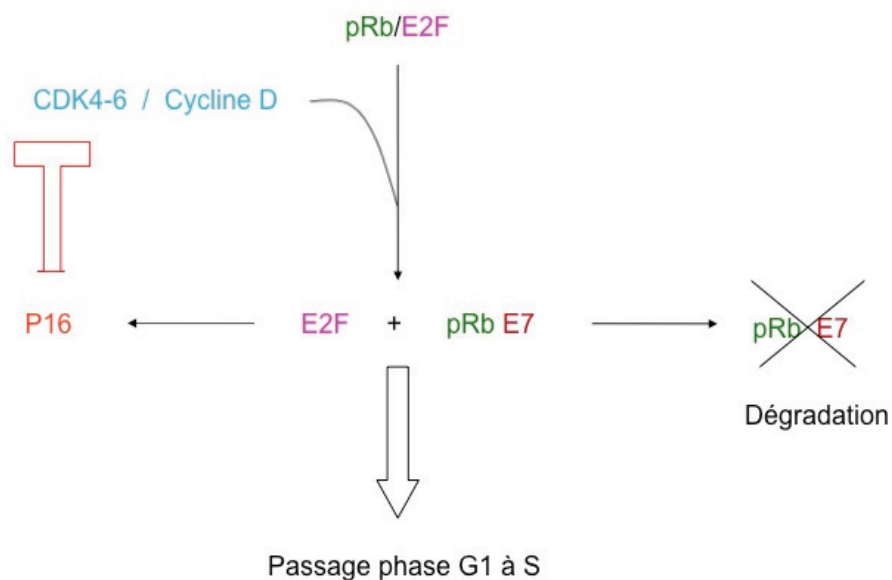


Figure 3. Voie de la protéine du rétinoblastome.

1.6.3.2. Effet de E7 sur la voie de la protéine du rétinoblastome (Figure 4)

L'oncoprotéine virale E7 des HPV HR se fixe de façon spécifique à la forme hypophosphorylée de la pRb et favorise sa dégradation dans le protéasome.²¹ La libération de E2F active les gènes nécessaires à la transcription de la phase G1 à la phase S. E2F active également la transcription de p16. La dégradation de la pRb entraîne donc une augmentation du taux de p16.²² L'augmentation de l'expression de p16 est sans effet puisque p16 inhibe cycline D/CDK 4-6 et que la protéine E7 court-circuite cette étape.²³

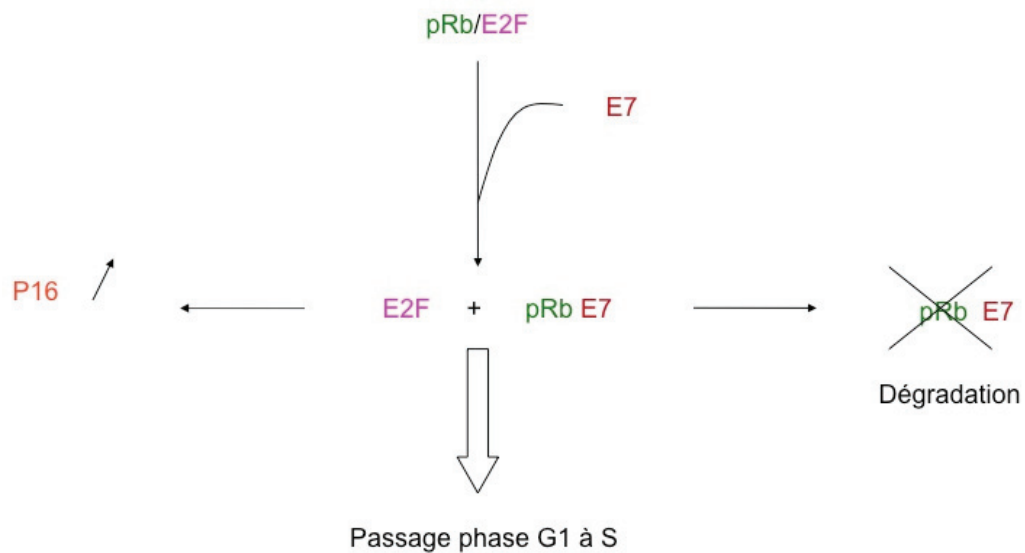


Figure 4. Effet de l'oncoprotéine E7 sur la voie de la protéine du rétinoblastome.

Données essentielles

Tous les HPV utilisent la différenciation des cellules malpighiennes pour réaliser leur cycle viral.

Les HPV HR sont capables d'intégrer leur génome à celui de la cellule hôte. Une éventuelle altération de E2 au cours de cette intégration entraîne une surexpression des oncoprotéines virales E6 et E7. E6 et E7, respectivement par la voie de p53 et de la pRb, sont susceptibles d'entraîner une transformation cancéreuse des cellules infectées.

1.7. Lésions vulvaires bénignes dues à HPV : les condylomes

Les condylomes touchent indifféremment l'homme et la femme, principalement au début de la vie sexuelle. Ils sont considérés comme la plus fréquente des infections sexuellement transmissibles après les infections à chlamydiae, avec une prévalence estimée entre 3 et 5%.¹⁰

Il existe trois types de condylomes :

- Les condylomes acuminés sont les classiques crêtes de coq. Ces lésions bourgeonnantes s'opposent par leur présentation clinique aux lésions condylomateuses cervicales, planes. Masses charnues, hérissées de petites verrucosités kératosiques, elles mesurent de 0,2 à 1 cm. Elles peuvent être uniques ou multiples, rosées ou grisâtres, localisées ou disséminées.
- Les condylomes papuleux consistent en des papules lisses, multiples, rosées ou de couleur chair.
- Les condylomes plans sont des macules rouges ou rosées de la muqueuse.

Les condylomes sont principalement dus à HPV 6 et 11. Le risque de contamination après un seul contact sexuel contaminant est de l'ordre de 60 à 70%. Les manifestations cliniques apparaissent le plus souvent 3 à 6 mois après l'infection initiale. Cependant le virus peut également rester à l'état latent pendant plusieurs mois, voire des années.

La régression spontanée est possible, mais l'évolution classique est habituellement l'extension des lésions en taille et en nombre. Elles n'évoluent pas vers des lésions cancéreuses mais elles récidivent dans 30% des cas environ. L'évolution est favorable après traitement local.

2. Néoplasies intra-épithéliales vulvaires (VIN)

2.1. Définition et nomenclature

La néoplasie intra-épithéliale vulvaire ou VIN (*Vulvar Intra-épithélial Neoplasia*) est une lésion précancéreuse de la vulve développée aux dépens des kératinocytes.

Il existe 2 mécanismes étiopathogéniques de la VIN :

- Les VIN classiques sont HPV-induites
- Les VIN différenciées sont indépendantes de l'HPV. Elles sont causées par un état inflammatoire chronique de la vulve et plus particulièrement par le lichen scléreux.

Pendant des années, l'absence de sous-classification consensuelle des VIN rendait cette entité mal comprise. L'étude de la littérature en est complexe compte tenu des modifications des différentes classifications résumées dans le tableau 2. L'ISSVD (*International Society for the Study of Vulvo-vaginal Diseases*) a modifié la terminologie en 2005, la simplifiant.²⁴

ISSVD 2005	VIN différenciée « differentiated VIN »	VIN classique « usual type »		
ISSVD 2002	VIN différenciée	VIN indifférenciée		
90's	Atypies basales	Atypies étagées		
80's	VIN 3 différenciée	VIN de bas grade	VIN de haut grade	
	Atypies basales	VIN 1	VIN 2	VIN3
	Atypies basales sévères	Atypies légères	Atypies modérées	Atypies sévères
		Dysplasie légère	Dysplasie moyenne	Dysplasie sévère
70's	Carcinome intra-épithélial simplex	Maladie de Bowen Papulose bowénoïde		

Tableau 2. Evolution de la terminologie histologique de la classification des VIN (tableau modifié d'après Plantier).²⁵

La classification de l'ISSVD ne se base pas sur des critères cliniques ou virologiques mais sur des critères histologiques.²⁴ Elle concerne les lésions vulvaires aussi bien muqueuses que cutanées.

Le terme VIN a été établi par analogie avec le terme CIN (*Cervical Intra-epithelial Neoplasia*) mais ces 2 entités sont différentes car les CIN sont des lésions HPV-induites alors que les VIN différenciées ne sont pas dues à HPV. Selon l'ISSVD, les VIN ne constitueraient pas un continuum lésionnel contrairement à l'évolution naturelle des CIN 1 vers les CIN 3.

Selon l'ISSVD, le terme VIN 1 ne devrait plus être employé car il n'y a pas de preuve que les VIN 1 sont des précurseurs de lésions néoplasiques. Leur diagnostic histologique est peu reproductible et elles sont peu fréquentes. Elles sont peut-être d'origine réactionnelle ou dues à l'effet cytopathogène du virus.²⁴ Les lésions histologiques précédemment étiquetées VIN 1 sont reclassées en condylomes plans ou en lésions dues aux effets cytopathogènes de l'HPV.

La classification de 2014 par l'OMS des tumeurs génitales²⁶ définit

- les VIN de bas grade (VIN BG) qui sont des lésions intra-épithéliales de l'épithélium malpighien regroupant les manifestations cliniques et histologiques d'une infection productive à HPV. Le risque de cancer associé aux VIN BG est faible.
- les VIN de haut grade (VIN HG) qui sont des lésions intra-épithéliales de l'épithélium malpighien, avec un risque significatif de développer un carcinome invasif si elles ne sont pas traitées.

Classification ISSVD 2005:

- **VIN classique**, HPV-induite regroupant les VIN HG et **excluant les VIN BG**
- **VIN différenciée** HPV-indépendante, liée classiquement au lichen scléreux.

Classification OMS 2014:

- **VIN BG** (ancienne VIN 1)
- **VIN HG** (anciennes VIN 2 et VIN 3)
- **VIN différenciée**

2.2. VIN classiques

2.2.1. Epidémiologie des VIN classiques

Les VIN classiques représentent 57% des néoplasies vulvaires (carcinomes épidermoïdes, maladie de Paget, mélanomes, VIN différenciées).²⁷ Elles sont bien plus fréquentes que les VIN différenciées (95 à 98%).²⁸

L'âge moyen au diagnostic des VIN classiques est de 49,5 ans dans la récente série de De Sanjosé de 587 patientes.²⁹

La prévalence des VIN classiques augmente. Dans l'étude de Joura, entre 1985 et 1994, le nombre de VIN de haut grade a triplé.³⁰

Environ 50% des femmes ayant une VIN classique :

- ont une autre néoplasie des voies génitales. La plupart du temps, il s'agit de CIN.³¹
- ont un antécédent ou un épisode concomitant d'infection sexuellement transmissible, le plus souvent un condylome acuminé.³²

Une méta-analyse de De Vuyst publiée en 2008 reprend les études analysant la distribution de l'HPV dans les néoplasies vulvaires, vaginales et anales.³³ La prévalence de l'HPV dans les VIN classiques était de 84% : 67,8% dans les VIN BG, 95,3% dans les VIN HG et 40,4% dans les carcinomes vulvaires. Dans les VIN BG, les génotypes les plus fréquents étaient l'HPV 6 (22,4%), l'HPV 16 (9,8%) et l'HPV 11 (9%). Dans les VIN HG, les génotypes les plus fréquents étaient l'HPV 16 (71,9%), l'HPV 33 (8%) et l'HPV 18 (5%).

2.2.2. Clinique des VIN classiques

Les lésions de VIN sont rarement symptomatiques sur le plan fonctionnel. Elles peuvent déclencher un prurit ou une sensation de brûlure.

Elles sont par contre facilement accessibles au dépistage clinique. A l'examen physique, on observe des macules pigmentées (25%), blanches (50%), roses, grises ou rouges, des papules, des lésions verruqueuses, des fissures ou des ulcérations.³² La taille des lésions est variable, généralement inférieure à 2 cm. Les lésions de VIN sont multiples dans 49% des cas,³⁴ voire confluentes. Elles se localisent sur le versant muqueux ou cutané, le plus souvent sur la petite lèvre. Selon Jones, il existe une atteinte associée du tractus génital inférieur (périnée, région péri-anale et vagin) dans 50% des cas.³⁵

Différentes entités cliniques de VIN classiques sont décrites mais non reconnues par l'ISSVD, ni par l'OMS.

- la **maladie de Bowen** de la vulve. Elle intéresse la femme d'âge post-ménopausique. Elle se présente sous la forme de plaques bien limitées, polycycliques, de couleur variable. Lorsqu'elle décrit une plaque rouge, elle est appelée érythroplasie de Queyrat.²⁷
- la **papulose bowénoïde**. Elle serait de pronostic favorable. Elle touche la femme d'âge inférieur à 30 ans, sous la forme de papules multiples pigmentées. L'abstention thérapeutique s'explique par la tendance à la régression spontanée des lésions.³⁶
- les **VIN 3 confluentes**, plus rares, plus sévères. Elles surviennent volontiers sur immunodépression. Elles peuvent prendre une forme érythroplasique ou érosive.²⁷

Devant la fréquence d'une atteinte multifocale du tractus génital, l'examen clinique doit comporter en outre un examen de toute la région périnéale, et notamment de la marge anale à la recherche d'autres foyers de néoplasie intra-épithéliale ou de condylomes, ainsi qu'un examen gynécologique au spéculum.

2.2.3. Histologie des VIN classiques

L'aspect histologique des VIN classiques se caractérise par une désorganisation architecturale de l'épithélium malpighien. Il peut être hyperplasique, papillomateux, volontiers surmonté d'une épaisse ortho- ou parakératose. Les annexes cutanées sont souvent colonisées, ce qui ne doit pas être confondu avec une invasion.

Au niveau cytologique, les atypies nucléaires rappellent la maladie de Bowen cutanée avec une augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique. Il existe un pléomorphisme nucléaire, avec parfois une multinucléation. Les noyaux sont hyperchromatiques, peu nucléolés, à la chromatine grossière pouvant être de disposition radiaire. Il persiste des koilocytes et des cellules dyskératosiques. Les mitoses sont parfois anormales.

Les VIN BG sont caractérisées par des atypies cyto-nucléaires intéressant le tiers basal de l'épithélium. De nombreux koilocytes sont souvent présents. Dans les VIN HG, ces atypies ascensionnent au-delà du tiers basal, et l'effet cytopathogénique du virus peut persister ou disparaître si la lésion occupe toute la hauteur de l'épithélium.^{25 26 32}

Deux sous-types sont décrits selon des critères cytologiques :

- le **sous-type condylomateux**, ou **bowenoïde** (Cf iconographie en annexe p90 et 93). Souvent multifocal, il concernerait la femme jeune. Il est classiquement constitué de cellules au cytoplasme plus abondant, au plus grand pléomorphisme nucléaire, à la chromatine grossière, avec un nucléole peu visible. La couche granuleuse est habituellement hyperplasique et riche en koilocytes et en cellules dyskératosiques.
- le sous-type **basaloïde** (Cf iconographie en annexe p 91 et 92). La lésion est souvent unique, bien limitée. Il toucherait la femme plus âgée. Il s'agit d'une prolifération tumorale de petites cellules monomorphes aux petits noyaux hyperchromatiques, assez uniformes, tassés les uns contre les autres. Il existe peu ou pas de maturation des kératinocytes.
- le sous-type **mixte**²⁵

Une patiente peut avoir des sous-types histologiques différents sur des lésions différentes ou dans une même lésion. Le sous-type histologique n'est pas un facteur histo-pronostique.

2.2.4. Analyse immunohistochimique des VIN classiques

2.2.4.1. Immunohistochimie p16

La surexpression de p16 est due à la libération du facteur de transcription E2F par la protéine E7 (Cf 1.6.3. Oncoprotéine virale E7). L'immunomarquage p16 est donc un moyen indirect de diagnostiquer une infection due à un HPV HR mais aussi l'expression de l'oncoprotéine E7.

Dans les VIN BG, elle peut être positive. Dans les VIN HG, elle est positive la plupart du temps. Il s'agit d'un marquage cytoplasmique et nucléaire. Selon l'OMS, il doit être intense, linéaire horizontal et continu pour être considéré comme positif (Cf iconographie en annexe p90 à 93).²⁶ Dans l'article de Rufforny, l'immunomarquage p16 était positif dans 20% des VIN BG, 92% des VIN HG et 100% des carcinomes épidermoïdes invasifs.³⁷ L'immunomarquage p16 n'est donc pas un marqueur sensible des VIN BG. Par contre, la sensibilité et la spécificité de l'immunomarquage p16 pour détecter les carcinomes épidermoïdes HPV-induits est de 100% et 98,7% respectivement.³⁸

2.2.4.2. Immunohistochimie Ki67

L'immunomarquage Ki67 a une valeur diagnostique et non pronostique. Il montre une augmentation du nombre de cellules en cycle dans le tiers basal pour les VIN BG. Il apparaît élevé au-delà du tiers basal dans les VIN HG.

Dans l'article de Logani, la sensibilité et la spécificité du Ki67 étaient respectivement de 96% et 90% pour le diagnostic des VIN BG.³⁹

2.2.5. Diagnostics différentiels

Les diagnostics différentiels histologiques à éliminer devant une VIN classique sont :

- le condylome typique ou atypique pour la forme condylomateuse
- le carcinome basocellulaire pour la forme basaloïde
- la maladie de Paget
- l'hyperplasie malpighienne atypique²⁵

2.2.6. Evolution et pronostic des VIN classiques

Certaines VIN récidivent, surtout en cas de multifocalité³⁵ ou de berges atteintes après exérèse chirurgicale.³⁴

L'évolution vers le carcinome épidermoïde invasif survient dans 3 à 7% des VIN classiques traitées.³⁰ Le délai d'apparition d'un cancer invasif en cas de VIN non traitée est en moyenne de 4 ans.³⁴

³⁵ Les facteurs de risque d'invasion sont les formes extensives ou multifocales, les berges d'exérèse atteintes, l'âge avancé et l'immunodépression. L'invasion est généralement peu profonde.³⁴ Les carcinomes épidermoïdes vulvaires dus à HPV sont classiquement des carcinomes de type bowenoïde ou basaloïde.²⁹ Tandis que l'incidence des VIN augmente, le taux de cancers invasifs reste à peu près stable, probablement grâce à un meilleur diagnostic et un traitement plus précoce.⁴⁰

Des cas de régression complète et spontanée de VIN classique ont été décrits. Ils survenaient dans 1 à 11% des cas, dans un délai de 10 mois en moyenne surtout chez des femmes jeunes, enceintes.^{34 36} Il s'agissait de cas de VIN 3 multifocaux correspondant cliniquement très probablement à des papuloses bowenoïdes. Le génotype en cause n'est pas connu.

L'histoire de la maladie étant différente selon les patientes, il est important de chercher les facteurs prédictifs de l'évolution. Parmi ces potentiels facteurs, le génotype d'HPV pourrait être déterminant.

2.2.7. Prise en charge d'une VIN classique

2.2.7.1. Examens paracliniques à réaliser devant une VIN classique

Devant l'hétérogénéité clinique de ces lésions, il est nécessaire de réaliser une biopsie pour confirmer histologiquement le diagnostic. La recherche d'un foyer invasif sur biopsie est possible mais ne prendra toute sa valeur que sur pièce d'exérèse.

Par ailleurs, le bilan d'infection sexuellement transmissible comprend un frottis cervico-utérin (FCU), les sérologies VIH et VHB, un TPHA VDRL et une PCR chlamydiae.

2.2.7.2. Prise en charge thérapeutique

Le traitement de la VIN classique dépend du nombre et de la taille des lésions mais il est le plus souvent conservateur car le potentiel évolutif est faible. On utilisera alors des immunomodulateurs (Imiquimob Aldara®), le laser CO₂ ou la cryothérapie. La vulvectomie partielle voire totale peut être nécessaire.⁴¹

Une surveillance clinique régulière s'impose pour vérifier l'absence de récurrence.

2.2.8. Prévention des VIN classiques

La prévention des VIN repose sur l'examen gynécologique.

Pour lutter contre le cancer du col de l'utérus, 2 options vaccinales anti-papillomavirus sont proposées. Le vaccin bivalent Cervarix® immunise contre les HPV HR 16 et 18 responsables de 80% des cancers du col. Le vaccin quadrivalent Gardasil® cible en plus les HPV BR 6 et 11.

L' HPV 16 est impliqué dans les VIN HG et les HPV 6 et 11 dans les condylomes acuminés. Le vaccin anti-HPV devrait donc être également efficace dans la prévention des VIN et des carcinomes épidermoïdes vulvaires.

Données essentielles

Les VIN classiques sont les plus fréquentes (95 à 98%).

Elles sont dues à HPV 16 dans 70% des cas.

Elles touchent la femme jeune.

Les lésions cliniques sont très hétérogènes (macules érythémateuses ou pigmentées, papules, lésions verruqueuses, plaques leucoplasiques...). Elles sont souvent multifocales et associées à d'autres lésions dues à HPV au niveau du périnée ou du col.

Le *gold standard* pour le diagnostic est l'examen anatomo-pathologique selon des critères histologiques et immunohistochimiques. L'examen histologique met en évidence une désorganisation architecturale, des koilocytes et des atypies cyto-nucléaires importantes. L'immunomarquage p16 est positif et le Ki67 marque des cellules en cycle sur une hauteur allant du tiers basal à la totalité de l'épithélium.

Le traitement peut se faire par topiques, laser, cryothérapie ou chirurgie.

2.3. VIN différenciées

2.3.1. Epidémiologie des VIN différenciées

Les VIN différenciées représentent 2 à 5% de toutes les VIN.²⁸

Elles se développent classiquement sur lichen scléreux. Le lichen scléreux est une maladie inflammatoire chronique atteignant principalement la vulve et touchant la femme d'âge moyen ou âgée. Il se manifeste sous la forme de plaques atrophiques, blanches nacrées, brillantes, bien limitées, de quelques millimètres à plusieurs centimètres de diamètre.

2.3.2. Clinique des VIN différenciées

L'âge moyen du diagnostic de la VIN différenciée est 67 ans.⁴²

Ces patientes souffrent classiquement d'une dermatose inflammatoire chronique. Il s'agit essentiellement du lichen scléreux vulvaire, mais aussi du lichen plan ou de la radiodermite.²⁵

La VIN différenciée se présente sous la forme d'une lésion infiltrée, ulcérée, leucoplasique ou érythroplasique, le plus souvent de 0,5 à 3 cm et qui ne disparaît pas sous dermocorticoïdes. Elle est surtout unifocale mais peut être multifocale.⁴³

2.3.3. Histologie des VIN différenciées

Histologiquement, le lichen scléreux se caractérise par une bande de scléro-hyalinose sous-basale. Le chorion superficiel prend un aspect hyalin, anhiste, oedémateux et comporte des télangiectasies. On retrouve un infiltrat inflammatoire lymphocytaire sous-jacent, en bande horizontale. A un stade débutant, la coloration de Verhoeff est nécessaire pour évaluer la disparition des fibres élastiques. L'épiderme apparaît atrophique mais peut être hypertrophique en cas de lichénification. La présence d'un lichen scléreux impose de rechercher une VIN différenciée.

Les VIN différenciées sont caractérisées sur le plan histologique par un épithélium acanthosique, presque toujours hyperkératosique, ortho- et/ou parakératosique. La couche granuleuse est épaissie lorsqu'elle est présente, les crêtes interpapillaires sont allongées parfois réticulées. On peut parfois observer des enroulements cellulaires pouvant aboutir à un globe corné au sein des crêtes papillaires (Figure 5).

Les altérations dysplasiques sont plus marquées au niveau des couches basales et supra-basales. Les cellules de la couche basale sont plus ou moins désorientées, petites avec des noyaux volumineux, hyperchromatiques aux atypies légères à modérées, au nucléole proéminent. Il existe parfois des mitoses anormales. Les kératinocytes supra-basaux présentent des atypies légères. Leur maturation est excessive, prématurée. Leur cytoplasme est alors plus abondant, éosinophile et le noyau un peu plus volumineux, nucléolé. Les ponts intercellulaires sont anormalement visibles par perte de la cohésion et non par spongiose. Il peut exister quelques cellules dyskératosiques isolées.

L'histologie de la VIN différenciée diffère radicalement de celle de la VIN classique.^{25 26 32}

Le terme différencié désigne donc une lésion caractérisée par des atypies basales associées à un épithélium bien différencié. Il est contestable car les cellules suprabasales ne sont pas normales même si leur maturation kératosique est importante. De plus, ce terme est histologiquement rassurant alors que le potentiel évolutif est plus péjoratif que celui de la VIN classique.

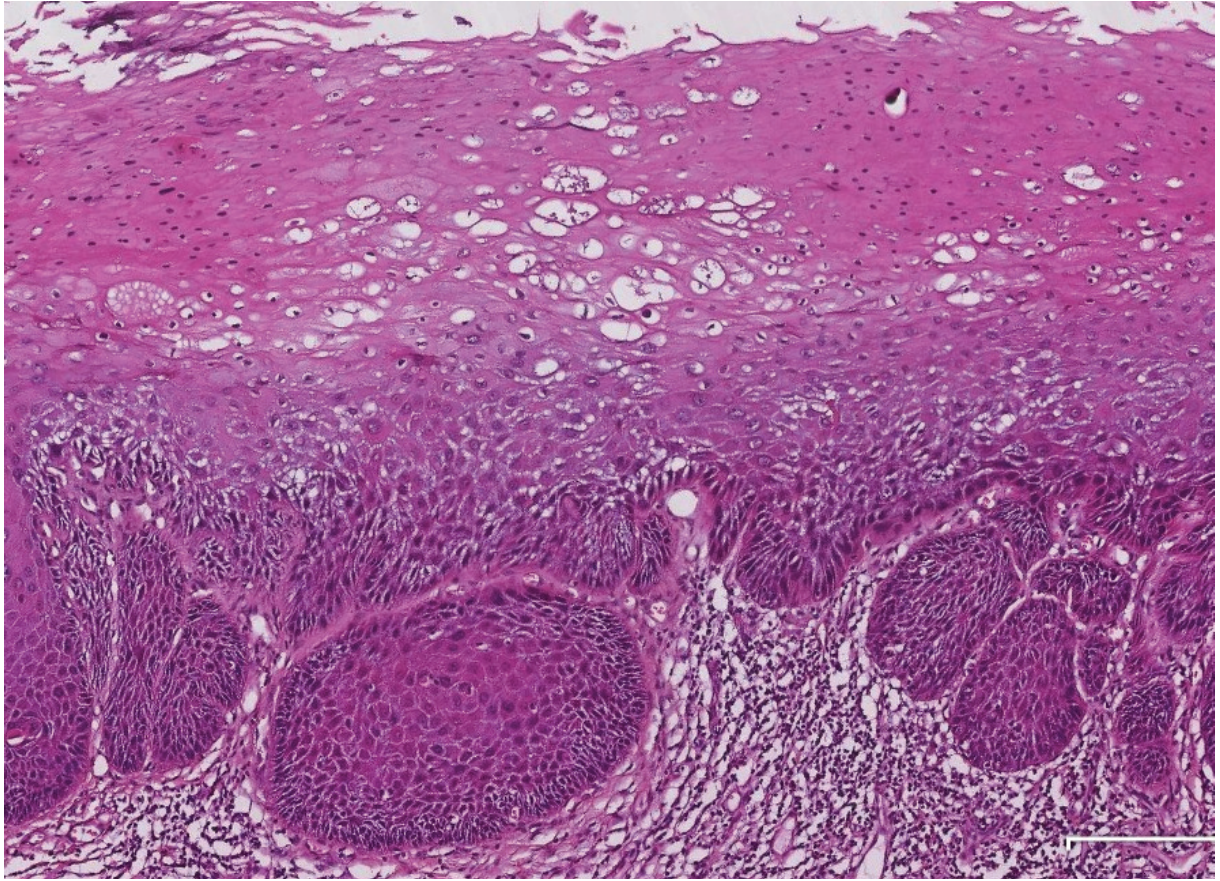


Figure 5. VIN différenciée (HESx70).

Epiderme hyperplasique, papillomateux avec des crêtes épidermiques renflées. Hyperkératose majeure avec parakératose. Atypies basales, maturation précoce, et ponts intercellulaires bien visibles. Infiltrat inflammatoire lymphocytaire dermique sans véritable bande fibro-hyaline sur ce bloc.

Le diagnostic peut être difficile si les atypies sont légères car la lésion est très bien différenciée. Ces anomalies ne s'apprécient bien qu'en comparaison avec l'épithélium normal adjacent. Sur les biopsies, l'absence d'épithélium normal rend le diagnostic plus difficile. Dans l'étude de Van De Nieuwenhof, 42% des lésions initialement diagnostiquées lichen scléreux qui ont évolué en carcinome invasif étaient reclassées en VIN différenciée après relecture.⁴⁴

2.3.4. Immunohistochimie des VIN différenciées

2.3.4.1. Immunohistochimie p16

Dans les VIN différenciées, l'immunomarquage p16 est généralement négatif.²⁶ Quelques rares cellules peuvent être marquées, ce qui ne définira pas un marquage positif.

2.3.4.2. Immunohistochimie Ki67

D'après l'OMS, l'immunomarquage Ki67 montre une augmentation du nombre de cellules en cycle au niveau basal et supra-basal mais ne s'étend pas à toute la hauteur de l'épithélium.²⁶

2.3.4.3. Immunohistochimie p53

Dans le diagnostic de la VIN différenciée, son rôle est débattu. Le marquage est nucléaire.

Dans l'étude menée par Yang, 10 patientes sur 12 présentant une VIN différenciée avaient un immunomarquage p53 positif au niveau des couches supra-basales.⁴² Ce n'était le cas d'aucune des lésions d'hyperplasie épithéliale ni de lichen scléreux. Dans l'article de Liegl, 80% des lichens scléreux débutants montraient un marquage positif, continu ou discontinu, des kératinocytes basaux. 20% des lichens scléreux classiques montraient un marquage discontinu et 58% un marquage continu.⁴⁵

Pour l'OMS, la positivité de la p53 est trop variable et n'est généralement pas utile au diagnostic.²⁶

Les définitions de l'ISSVD 2005 et de l'OMS 2014 se basent sur des critères morphologiques histologiques appuyés sur les examens immunohistochimiques p16 et Ki67.²⁴

2.3.5. Diagnostics différentiels des VIN différenciées

Les diagnostics différentiels à évoquer devant une VIN différenciée sont :

- le lichen scléreux hyperplasique. L'épithélium présente une hyperplasie régulière mais sans atypie.
- la lichénification
- l'hyperplasie épithéliale réactionnelle
- un épithélium régénératif²⁵

2.3.6. Evolution et pronostic des VIN différenciées

Aucun cas de régression spontanée de VIN différenciée n'a été publié à ce jour.

D'après Carlson, 9% des patientes suivies pour un lichen scléreux développeront un carcinome épidermoïde vulvaire.⁴⁶ Dans l'article de Van De Nieuwenhof, pour un suivi de 14 ans, 33% des patientes présentant une VIN différenciée avaient progressé vers un carcinome épidermoïde. La durée médiane d'évolution vers le carcinome épidermoïde était rapide (23 mois).⁴⁷

Dans l'étude de Yang, 58% des carcinomes épidermoïdes sont associés à une VIN différenciée.⁴² Dans celle de Van De Nieuwenhof, ce taux atteignait 81%.⁴⁸ Il semble donc que le potentiel de transformation en lésion invasive de la VIN différenciée soit bien supérieur à celui de la VIN classique.

Les carcinomes épidermoïdes issus des VIN différenciées sont très majoritairement des carcinomes épidermoïdes kératinisants bien différenciés.⁴²

Dans l'étude de Van De Nieuwenhof, la survie à 5 ans des carcinomes épidermoïdes associés à une VIN différenciée était de 70% tandis que celle des carcinomes épidermoïdes associés à une VIN classique était de 100%.⁴⁸

2.3.7. Traitement des VIN différenciées

La VIN différenciée nécessite une chirurgie à cause de son potentiel évolutif. L'orientation du prélèvement par le clinicien permet d'apprécier précisément la qualité de l'exérèse pour une éventuelle reprise en cas de berges atteintes. La surveillance au long cours s'impose, avec réalisation d'une biopsie en cas de doute sur une récurrence.

Le traitement préventif repose sur une prise en charge précoce et continue du lichen scléreux vulvaire sous-jacent.

Données essentielles :

Les VIN différenciées sont beaucoup plus rares que les VIN classiques (5 à 7 % des VIN).

Elles touchent la femme d'âge post-ménopausique. Elles surviennent classiquement dans un contexte de lichen scléreux.

Histologiquement, elles sont difficiles à diagnostiquer car très bien différenciées.

Elles ont un fort potentiel évolutif vers des lésions invasives avec un délai d'apparition d'un carcinome épidermoïde invasif 2 fois plus rapide que celui des VIN classiques.

Elles doivent être traitées par une exérèse chirurgicale complète.

3. Rationnel de l'étude

L'infection à papillomavirus est un problème de santé publique. Les mécanismes impliquant l'HPV dans l'oncogenèse des lésions dysplasiques et des cancers du col de l'utérus sont bien connus. Le génotypage de l'HPV est utilisé pour guider la prise en charge des patientes présentant des lésions ASC-US et ASC-H au FCU. La connaissance de l'épidémiologie virale a permis l'élaboration d'un vaccin anti-papillomavirus ciblant les principaux types d'HPV retrouvés dans les lésions cervicales.

Le rôle d'HPV dans les VIN est beaucoup moins connu car il s'agit d'une maladie rare. La distinction entre VIN classique et différenciée ajoute un niveau de complexité.

Nous proposons donc une étude originale, rétrospective, dans laquelle nous réalisons un génotypage HPV des lésions de VIN, dans le but de valider une technique de génotypage HPV initialement mise au point sur prélèvements cervicaux utérins fixés au formol et inclus en paraffine, et de définir les caractéristiques cliniques, histologiques et virologiques des VIN. Pour cela, nous avons révisé tous les cas de VIN diagnostiqués sur plus de 4 ans dans le service d'anatomie et cytologie pathologique, en fonction de la classification OMS 2014 et confronté les données anatomo-cliniques au génotypage HPV.

Matériels et Méthodes

1. Type d'étude et critères d'inclusion

Cette étude observationnelle portait sur une série rétrospective de cas de néoplasies intra-épithéliales vulvaires pris en charge au CHU de Nice dans les services de dermatologie du Professeur Lacour et de gynécologie du Professeur Bongain. Ces cas avaient fait l'objet de prélèvements analysés dans le service central d'anatomie et cytologie pathologique du Professeur Michiels entre le 1^{er} janvier 2010 et le 10 avril 2014. Les cas étaient recueillis à partir du système de gestion de laboratoire Apix.

2. Recueil des données

2.1. Recueil des données cliniques

Etaient recueillis à partir du dossier clinique informatisé Clinicom du CHU et du logiciel Apix :

- l'âge de la patiente au moment du diagnostic
- le statut VIH de la patiente
- ses antécédents médicaux et chirurgicaux et en particulier la notion de greffe antérieure ou la prise d'un traitement immunosuppresseur ou immunomodulateur
- le caractère unifocal, multifocal, ou diffus des lésions
- la localisation anatomique de la lésion étudiée
- l'aspect clinique de la lésion : papule, verrue, macule érythémateuse, macule pigmentée, érosion ou non précisée.
- le type de prélèvement : biopsie, vulvectomie partielle ou totale
- la notion d'autres lésions génitales HPV-induites : condylome vulvaire, condylome anal, néoplasie intra-épithéliale anale, carcinome épidermoïde anal, néoplasie intra-épithéliale vaginale.

- le résultat et la date d'un FCU antérieur selon la classification de Bethesda et le résultat d'un éventuel génotypage HPV sur FCU ainsi que le résultat d'une éventuelle biopsie cervicale ou conisation.

2.2. Recueil des données histologiques

Les lames avaient été réalisées à partir de coupes de 2 microns d'épaisseur et colorées à l'hématoxyline-éosine-safran (HES). Les diagnostics initiaux avaient été effectués par les docteurs Chevallier, Piche ou Cardot-Leccia. Les lames ont été ultérieurement relues par 2 pathologistes (docteurs Perrin et Ambrosetti) selon les critères de la classification OMS.²⁶ En cas de discordance, la lame était revue conjointement par les 2 pathologistes pour trouver un accord.

Etaient consignés :

- le sous-type de VIN :

- différenciée ou classique
- VIN BG ou VIN HG pour les VIN classiques
- basaloïde ou bowenoïde pour les VIN HG

- la présence d'un carcinome malpighien invasif associé.

Un bloc représentatif comprenant les lésions de VIN de grade le plus élevé était sélectionné. Lorsqu'une patiente présentait plusieurs lésions de VIN, un seul bloc par patiente était sélectionné.

Lorsqu'un lichen scléreux était suspecté par le clinicien ou lorsqu'il existait une fibro-hyalinose sous basale à l'histologie, une coloration de Verhoeff était réalisée. En cas de disparition des fibres élastiques du derme superficiel, le diagnostic de lichen scléreux vulvaire était porté.

Tous les blocs sélectionnés faisaient l'objet d'un immunomarquage Ki67 (clone Mib1 Dako® *monoclonal mouse* pré-dilué, PH6, révélation FLEX, référence IR626) et p16 (clone E6H4 MTM®, *mouse antibody*, pré-dilué, révélation kit MTM histo ENVISION/DAB).

Le marquage nucléaire Ki67 aidait au diagnostic de VIN et à la détermination du grade des VIN classiques :

- Un nombre de cellules en cycle augmenté ne dépassant pas le tiers inférieur de la hauteur de l'épithélium orientait vers une VIN BG.
- Un nombre de cellules en cycle augmenté dépassant le tiers inférieur de la hauteur de l'épithélium orientait vers une VIN HG.

Un immunomarquage p16 positif était défini comme un marquage nucléaire et cytoplasmique intense linéaire basal et continu de toute la lésion.

3. Technique de génotypage

Les étapes nécessaires au génotypage HPV à partir du bloc de paraffine étaient les suivantes :

- lyse cellulaire
- déparaffinage
- extraction d'ADN avec l'automate Easymag® (facultatif)
- amplification par PCR du gène E1 de l'ADN HPV.
- hybridation du produit de PCR sur une puce *PapilloCheck*®
- lecture automatisée de la lame par un scanner

La technique utilisée était celle développée par le docteur Cannavo.⁴⁹ Ce travail innovant a permis l'optimisation de la technique de génotypage HPV sur conisations fixées au formol et incluses en paraffine dans les lésions de néoplasie intra-épithéliale cervicale.

3.1. Réalisation des coupes de paraffine

Au sein du laboratoire d'anatomopathologie, 3 à 6 coupes de 20 μm étaient réalisées en fonction de la taille du prélèvement, à l'aide d'un microtome, sur le bloc sélectionné. Les plus petits prélèvements faisaient l'objet de 6 copeaux, les plus gros de 3 copeaux. La lame du microtome était changée entre les différents blocs pour éviter toute contamination.

Elles étaient transportées dans un tube eppendorf stérile au laboratoire de virologie du professeur Giordanengo du CHU de Nice. Le prélèvement était identifié par le numéro d'enregistrement attribué initialement à la pièce par le laboratoire d'anatomopathologie.

3.2. Lyse cellulaire (Figure 6)

Les coupes étaient resuspendues dans 900 μL d'eau. Le tube était ensuite incubé dans un bain sec à 100°C pendant 15 minutes. Cela permet de détruire une grande partie des ponts inter-caténaires et des liaisons covalentes entre acides nucléiques induits par la fixation formolée et de faciliter la digestion enzymatique.

100 μL de tampon de lyse étaient ajoutés. Ce tampon contenait du Tris (500 mM pH 8,5), de l'EDTA (10 mM pH 8) et un détergent, le Tween 20 (à 5%) qui lyse les membranes cellulaires.

2 mg de protéinase K étaient ensuite ajoutés. La protéinase K est une sérine protéase non spécifique qui digère les protéines, lysant ainsi les cellules et les noyaux. Cela rend l'ADN et l'ARN accessibles. Elle est aussi utilisée pour inactiver les nucléases endogènes (RNAses et DNAses). Stable entre 40 et 65°C, elle est efficace en présence de détergents tels que le Tween.

On incubait le mélange dans un bain marie à 56°C pendant au moins 5 heures, en ajoutant 2 mg de protéinase K toutes les 2 heures. Ces ajouts itératifs permettaient de remplacer la protéinase K dégradée afin d'optimiser la lyse cellulaire.

En incubant le tube eppendorf dans un bain sec à 100°C pendant 10 minutes, la protéinase K était inactivée puisqu'elle perd son activité enzymatique après chauffage supérieur à 90°C.

3.3. Déparaffinage (Figure 6)

Rapidement, dès la sortie du bain, le déparaffinage était réalisé par centrifugation du tube à 4°C à 16 000 g, pendant 30 secondes. Un anneau de paraffine se solidifiait en surface. Il suffisait de percer l'anneau avec une aiguille pour récupérer le lysat liquide et le transférer dans un nouveau tube eppendorf stérile.

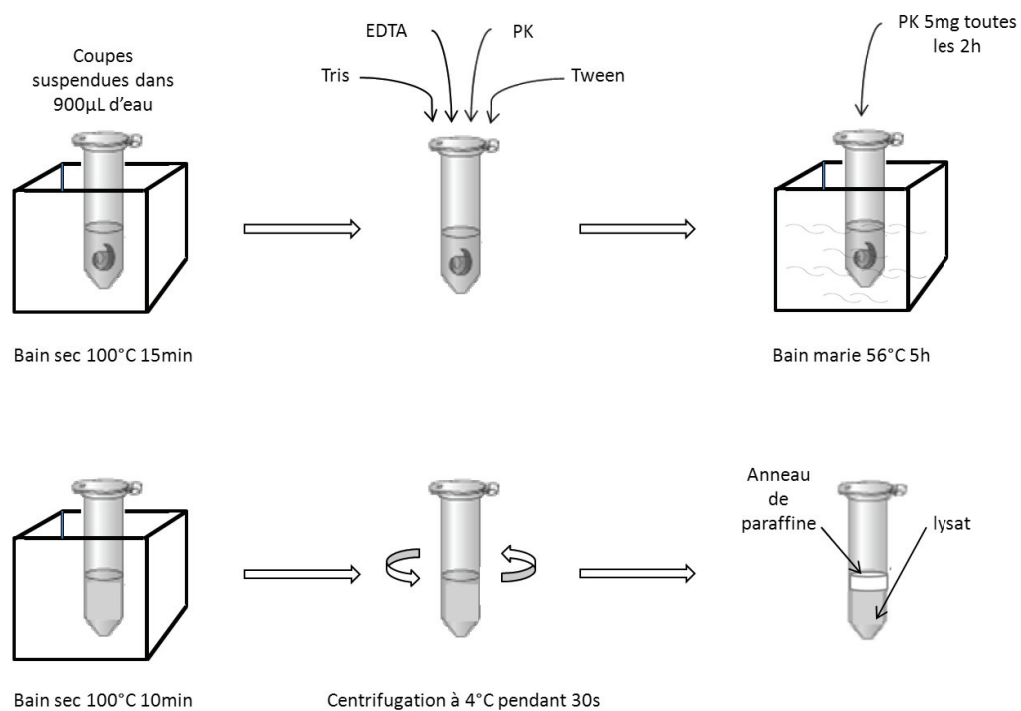


Figure 6. Lyse cellulaire et déparaffinage.

3.4. Extraction d'ADN (Figure 7)

Le but de l'extraction des acides nucléiques est d'éliminer les composants tels que l'hémoglobine, les protéines plasmatiques, ou le formaldéhyde qui pourraient parasiter la PCR. Cette étape était facultative. Nous avons réalisé, pour chaque prélèvement, le génotypage HPV avec et sans cette étape d'extraction d'ADN.

Elle s'effectuait au moyen d'un automate, NucliSENSTM EasyMag[®], des laboratoires Biomérieux sur le principe d'une résine échangeuse d'ions. Il s'agit d'une silice qui a la propriété d'adsorber sélectivement les acides nucléiques. Le protocole recommandé par les fabricants sur les prélèvements solides paraffinés est appelé « Spécifique B ».

A. Incubation : Après la lyse des échantillons dans le tampon NucliSENS (isothiocyanate de guanidium 5M), tous les acides nucléiques étaient capturés par la silice micronisée magnétique.

B. Purification : Le système d'aimantation permettait le lavage dynamique puis la fixation de la silice magnétique pour purifier le lysat et ne retenir que les acides nucléiques.

C. Elution : L'étape de chauffage libérait les acides nucléiques de la silice.

D. Elimination de la silice : la silice était séparée de l'éluat par le système d'aimantation.

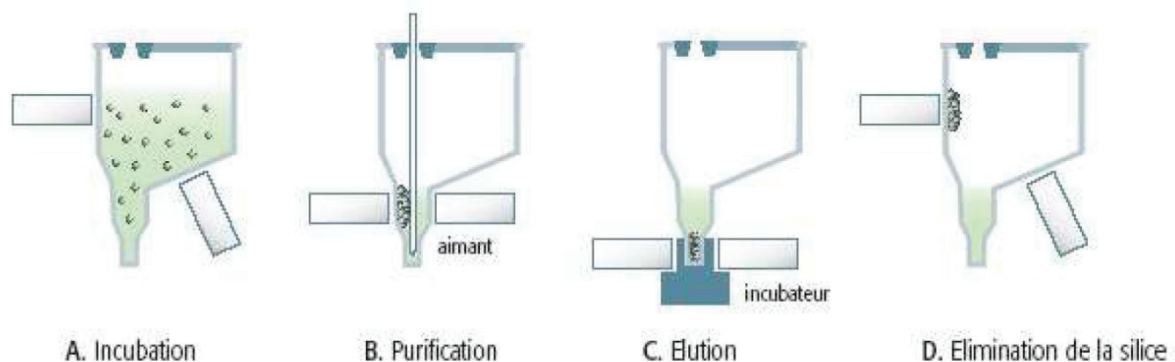


Figure 7. Extraction d'ADN par l'EasyMag[®] d'après Docteur Cannavo.⁴⁹

3.5. PCR

3.5.1. Principe

On amplifiait un fragment d'environ 350 nucléotides du gène E1 de l'HPV.

3.5.2. Préparation du milieu réactionnel tamponné de PCR

Le milieu réactionnel tamponné, ou *mix*, comprenait les éléments indispensables à la PCR. Il était préparé dans une pièce de biologie moléculaire dans laquelle les manipulateurs devaient porter charlotte, masque et surblouse pour éviter toute contamination.

Un *mix* de 13 conditions (12 places sur la puce + 1 volume mort) était préparé dans la glace dans un tube eppendorf :

- 19 µL de milieu *Mastermix Papillocheck*®. Ce milieu était conservé à 4°C. Il comprenait :

- les précurseurs trinuécléotidiques (les dNTP : dATP, dCTP, dGTP et **dUTP**)
- le cation Mg^{2+} indispensable au bon fonctionnement de la polymérase et à l'incorporation correcte des précurseurs
- les *primers* sens et anti-sens des 25 types d'HPV testés. Ces *primers* étaient marqués d'un fluorochrome rouge
- un fragment d'ADN témoin avec ses *primers* sens et anti-sens qui servaient de contrôle de la qualité de la PCR. Ces *primers* étaient marqués par un fluorochrome rouge.
- des *primers* sens et anti-sens d'un gène ubiquitaire ADAT1 qui servaient de contrôle à la qualité de l'échantillon analysé. Ces *primers* étaient également marqués d'un fluorochrome rouge.

- 1 µL d'Uracile-DNA-Glycosylase (UDG) dilué à 1/200. L'UDG évitait toute contamination.

- 1 µL d'ADN polymérase thermostable ou Taq *Hot Start* était ensuite ajoutée. Elle synthétise l'ADN. Elle a la propriété de n'être active qu'après une incubation à haute température.

- 0,2 µL de gélatine (bovine Sigma 0.01%). La gélatine servait à optimiser l'action de la Taq polymérase.

20 μ L de ce *mix* était distribué dans 12 tubes à PCR numérotés de A1 à B6 auxquels on ajoutait 5 μ L de l'ADN extrait de chaque prélèvement à étudier.

3.5.3. Etapes de la PCR

Le protocole de PCR utilisé recommandé par le fabricant était le suivant :

Réaction	Température	Temps	Nombre de Cycles
Action de L'UDG	20°C	10 min	1
Dénaturation et Inactivation de l'UDG	95°C	15 min	1
Dénaturation	95°C	30 sec	
Hybridation	55°C	25 sec	40
Elongation	72°C	45 sec	
	95°C	30 sec	15
	72°C	45 sec	
Fin de réaction	4°C	Infini	

Tableau 3. Protocole de PCR.

Un problème récurrent en PCR est la contamination par d'éventuels produits des PCR précédentes. Pour lutter contre ces faux positifs, nous avons utilisé 2 moyens :

- l'Uracile-D-Glycosylase. L'UDG clive partout où une base d'uracile a été incorporée. La base d'uracile n'est pas présente dans l'ADN natif. Son utilisation en début de PCR permet la lyse des amplicons résiduels d'une PCR antérieure évitant toute contamination.
- un circuit en sens unique, des pièces de pré-PCR vers les pièces de post-PCR. Toutes les techniques suivantes s'effectuaient donc en salle de post-PCR.

3.6. Système *PapilloCheck*® (Greiner Bio-One)

3.6.1. Principe

Cette technique de biologie moléculaire permet un génotypage simple, sensible et rapide. Il s'agit d'une puce ADN permettant la détection qualitative de 25 types d'HPV :

- 16 HPV HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 70, 73, 82

- 2 HPV RI : 53, 66

- 7 HPV BR : 6, 11, 40, 42, 43, 44/55

Elle est certifiée *In-Vitro-Diagnostica*, et enregistrée en Union Européenne (marquage CE-IVD) pour la détection HPV qualitative dans les préparations d'ADN issues de FCU. La technique a été adaptée par le docteur Cannavo pour l'ADN extrait de prélèvements inclus en paraffine.⁴⁹

Les amplicons sont fluorescents car les *primers* utilisés lors de la PCR sont fluorescents. Une puce *PapilloCheck*® compte 12 puits. Le dernier puits est destiné à un témoin HPV 16, contrôle interne de qualité. Chaque puits contient un *microarray* avec 28 sondes spécifiques : 24 sondes spécifiques d'un type d'HPV et 4 sondes témoins. Chaque sonde est présente sur 5 spots (Figure 8).

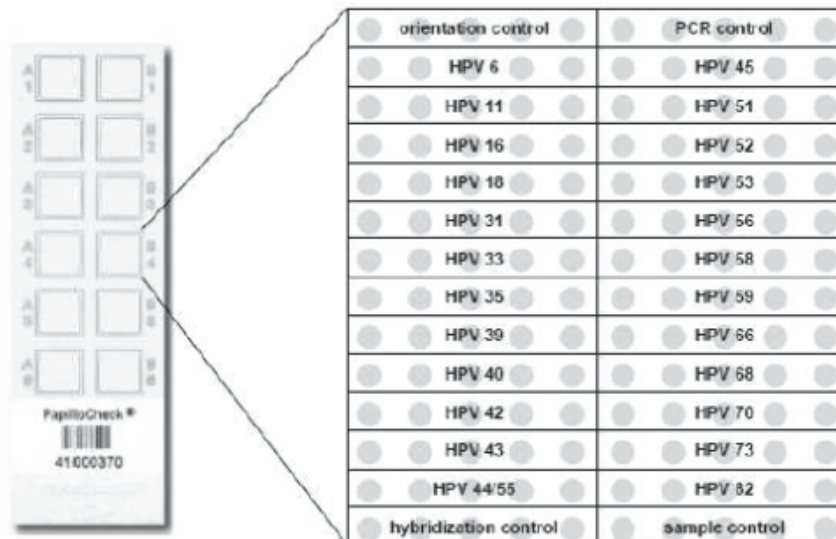


Figure 8. Puce *PapilloCheck*® d'après docteur Cannavo.⁴⁹

1 puits = 1 microarray = 28 sondes avec 5 spots chacune

3.6.2. Préparation du milieu réactionnel d'hybridation

Chaque *mix* d'hybridation contenait :

- 5 μ L de produit de PCR de chaque prélèvement à étudier
- 30 μ L d'*hybridation buffer*. Ce tampon d'hybridation comprenait une sonde marquée au Cy3, un fluorochrome vert, qui servait de témoin d'hybridation.

25 μ L étaient déposés sur chaque puits de la puce (Figure 9)

Les produits d'amplification s'hybridaient alors aux sondes ADN spécifiques fixés sur la puce à ADN. La lame était incubée pendant 15 minutes en chambre humide, à l'abri de la lumière.

3.6.3. Lavage (Figure 9)

Le tampon de lavage était constitué de :

- 140 mL d'eau distillée
- 14 mL de tampon A
- 1,75 mL de tampon B. Ce composé cristallisait à température ambiante. Un chauffage préalable au bain marie à 50°C était donc nécessaire.

Ce tampon de lavage était réparti de manière équilibrée en 3 tubes de 50 mL, le 2^{ème} tube étant placé au bain marie à 50°C.

La lame était lavée pendant :

- 10 secondes dans le 1^{er} tube à température ambiante
- 60 secondes dans le 2^{ème} tube à 50°C
- 10 secondes dans le 3^{ème} tube à température ambiante

3.6.4. Séchage (Figure 9)

La lame était placée dans un tube de 50mL sec entouré de papier aluminium et centrifugé à 3 500 tours pendant 3 minutes.

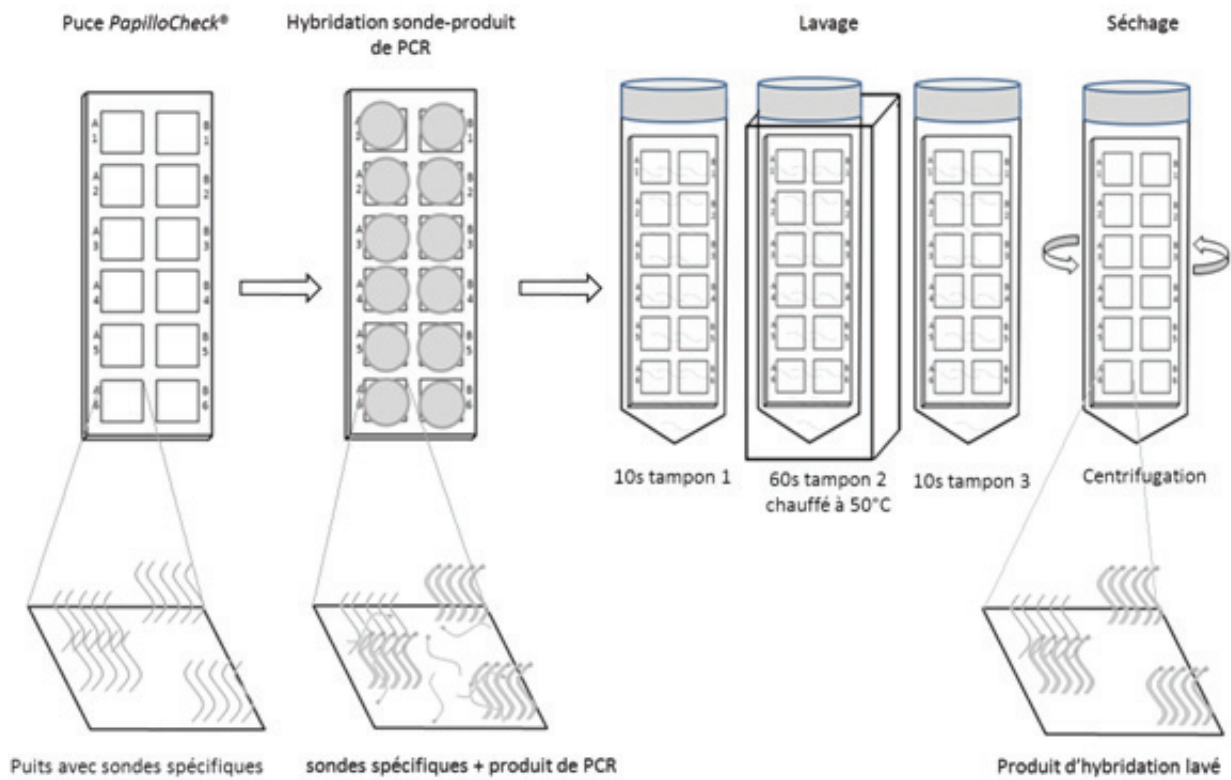


Figure 9. Hybridation *PapilloCheck*® puis lavage et séchage.

3.6.5. Lecture

La lame était introduite dans le scanner de lame. Le scanner lisait les longueurs d'onde entre 532 (vert) et 635 nm (rouge). L'analyse de la puce était réalisée à l'aide du logiciel *CheckReport*™.

Les 4 contrôles permettaient de valider la technique sur chaque puce :

- Contrôles fluorescents dans la longueur d'onde 532 nm (vert) (Figure 10):

1. Contrôle d'orientation de la lame en haut à gauche de la lame. Les 5 spots en haut à gauche émettent un signal de 532 nm quelle que soit la qualité de l'hybridation. Ils permettaient de vérifier la bonne orientation de la lame lors de l'introduction dans le scanner.
2. Contrôle d'hybridation en bas à gauche de la lame. Ces 5 spots comportent une sonde complémentaire du témoin d'hybridation présent dans le tampon d'hybridation marqué par le fluorochrome vert Cy3. On validait ainsi l'hybridation et l'homogénéité du signal.

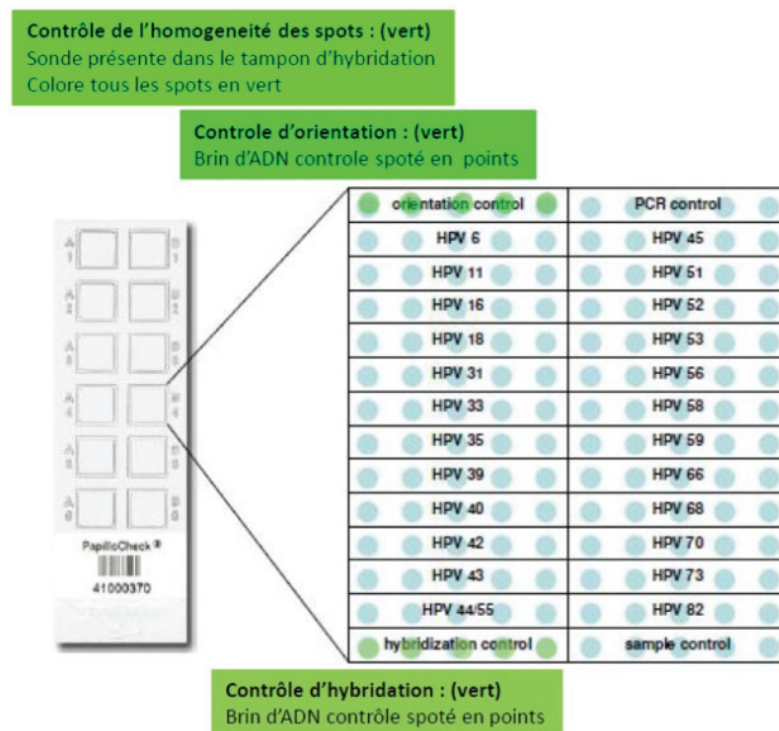


Figure 10. Contrôles fluorescents dans la longueur d'onde verte de la puce *PapilloCheck*®.

- Contrôles fluorescents dans la longueur d'onde 635 nm (rouge) (11):

3. Contrôle de la qualité de la PCR en haut à droite de la lame. Ces 5 spots comportent la sonde complémentaire du fragment d'ADN témoin amplifié contenu dans le *mix* de PCR *MasterMix PapilloCheck®*. Ce fragment amplifié est marqué d'un fluorochrome rouge.
4. Contrôle d'échantillon en bas à droite de la lame. Ces 5 spots comportent la sonde complémentaire du gène ubiquitaire ADAT1 amplifié lors de la PCR. Ce contrôle valide la cellularité de l'échantillon et la réussite de l'extraction d'ADN.

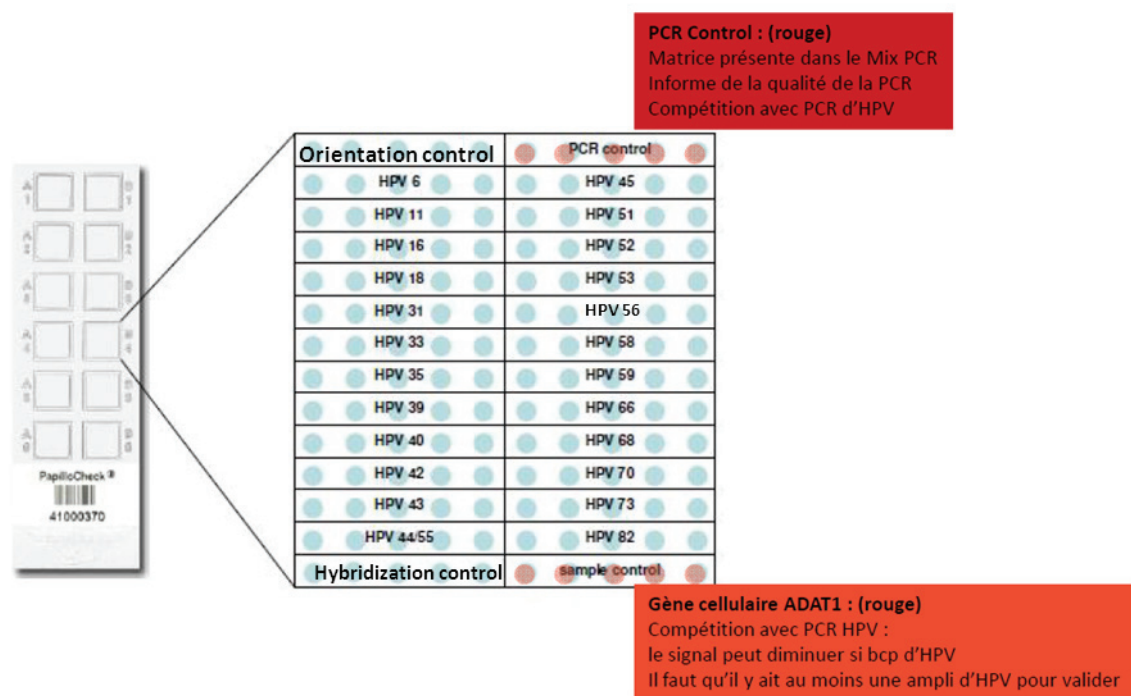


Figure 11. Contrôles fluorescents dans la longueur d'onde rouge de la puce *PapilloCheck®*.

Sur chaque ligne de 5 spots, une sonde complémentaire d'un type d'HPV est positionnée. Il y a 24 sondes spécifiques permettant de détecter 25 types d'HPV (HPV 44 et 55 couplés sur la même sonde).

Le logiciel rend pour chaque ligne de 5 spots un résultat qualitatif (positif ou négatif), selon que l'intensité du signal lumineux dépasse ou non un certain seuil (Figure 12).

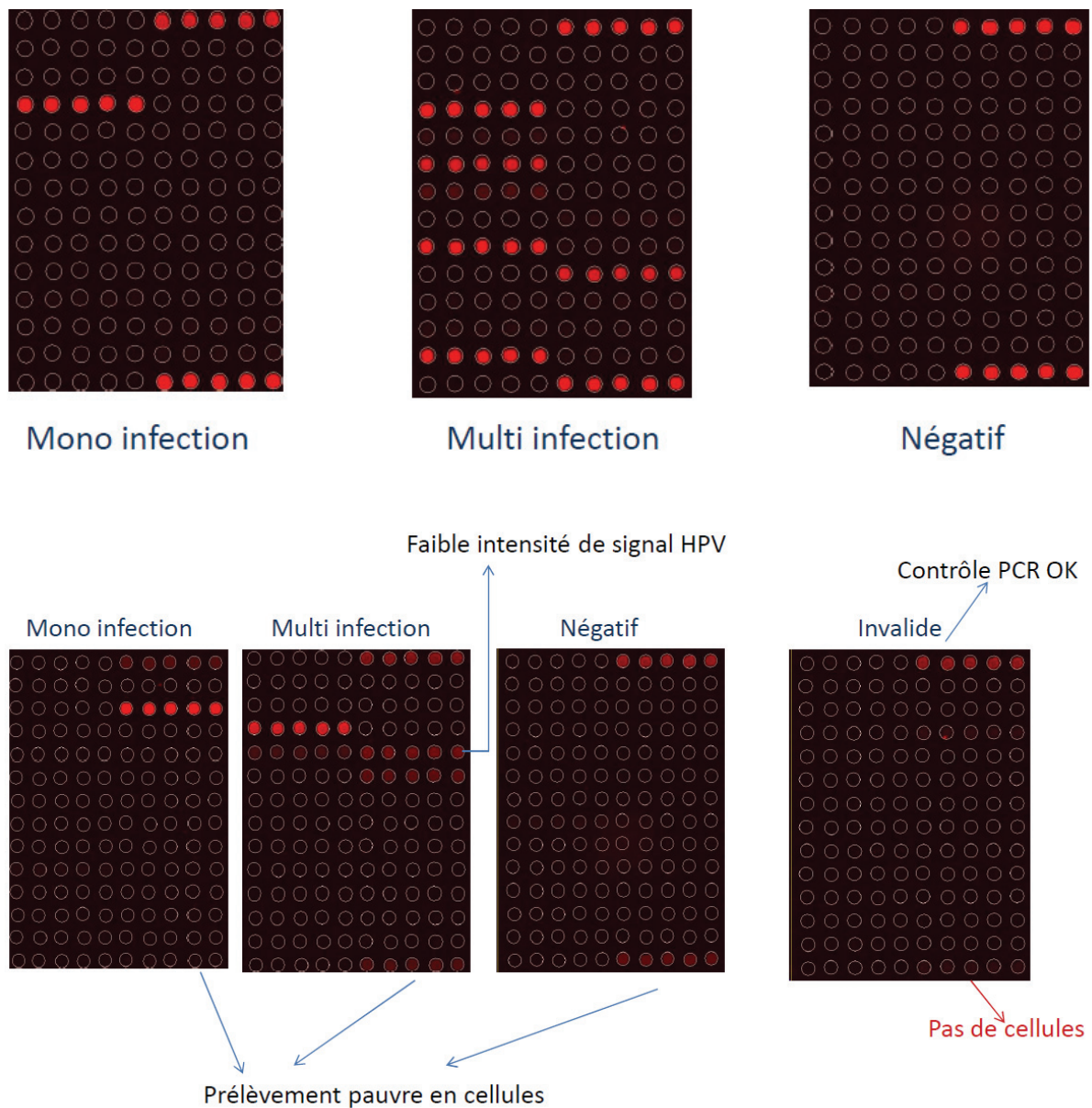


Figure 12. Exemples de résultats sur puce *PapilloCheck*®.

Au total, la technique complète de génotypage HPV à partir de prélèvements formolés et inclus en paraffine nécessitait 24 heures.

Lorsque les témoins étaient invalides, la technique était réitérée sur un autre bloc.

Lorsqu'aucun HPV n'était détecté mais que les différents témoins étaient valides, la technique était réitérée sur un autre bloc.

Résultats

1. Description de la population

La population incluse était constituée de 48 patientes dont le diagnostic de VIN reposait sur les critères histologiques et immunohistochimiques définis par l’OMS.

On retrouvait :

- 45 cas de VIN classiques
- 3 cas de VIN différenciées

La technique de génotypage n’a pas été contributive pour 8 cas exclus pour l’analyse des données.

La population étudiée était donc composée de 40 patientes :

- 39 patientes atteintes de VIN classique (97,5%)
- une patiente atteinte de VIN différenciée (2,5%).

S’agissant de 2 pathologies distinctes, nous avons décrit ces cas séparément.

1.1. Description des cas de VIN classique

1.1.1. Description des caractéristiques cliniques des cas de VIN classique

Le tableau 4 résume les caractéristiques cliniques de la population atteinte de VIN classique.

VIN classiques n = 39	
Age (années)	
Extrêmes	19-84
Moyenne	52
Médiane	49
Immunodépression	
VIH isolé	1 (3%)
VIH + VHB/VHC	7 (18%)
Immunosuppresseur/immunomodulateur*	4 (10%)
Carcinome épidermoïde vulvaire associé	5 (13%)
Lichen scléreux vulvaire	5 (13%)
Type de prélèvement	
Biopsie	23 (59%)
Vulvectomy partielle	15 (38%)
Vulvectomy totale [§]	1 (3%)

Tableau 4. Description de la population présentant une VIN classique.

* Traitement par Cyclosporine et Méthotrexate pour une leucémie aiguë myéloïde avec allogreffe de moelle osseuse.

Traitement par Azaticidine pour une anémie réfractaire par excès de blastes.

Traitement par Adalimumab pour une maladie de Crohn.

Traitement par Méthylprednisolone, Méthotrexate puis Interleukine 2 pour une pelade.

[§] VIN en périphérie d'un volumineux carcinome épidermoïde.

Au cours du recueil des données, nous avons relevé les cas de patientes présentant un cancer extra-génital potentiellement HPV-induit :

- Une patiente VIH positive était atteinte d'une épidermodysplasie verruciforme avec de multiples transformations en carcinomes épidermoïdes cutanés infiltrant.
- Une patiente, également VIH positive, souffrait aussi d'un carcinome épidermoïde de langue au sein duquel la recherche d'HPV n'a pas été effectuée. L'examen anatomo-pathologique réalisé au Centre Antoine Lacassagne (Docteur Haudebourg) retrouvait quelques cellules d'allure koilocytaire.

1.1.2. Caractéristiques cliniques des lésions de VIN classique

Les caractéristiques cliniques des lésions de VIN classique sont décrites dans le tableau 5.

L'iconographie illustrant 4 cas se situe en annexe.

VIN classiques n = 39	
Type d'atteinte vulvaire par les lésions de VIN	
Diffuse	14 (36%)
Multifocale	6 (15%)
Unifocale	19 (49%)
Localisation anatomique de la lésion sélectionnée	
Grande lèvre	12 (31%)
Petite lèvre	6 (15%)
Sillon interlabial	2 (5%)
Fourchette	5 (13%)
Clitoris	4 (10%)
Urètre	4 (10%)
Sillon génito-crural	3 (8%)
Vulve entière	2 (5%)
Vestibule	1 (3%)
Aspect clinique de la lésion	
Leucoplasie	6 (15%)
Papule	6 (15%)
Verrue	6 (15%)
Macule érythémateuse	5 (13%)
Erosion	3 (8%)
Macule pigmentée	2 (5%)
Lichénification	1 (3%)
Non précisé	10 (26%)

Tableau 5. Description clinique des lésions de VIN classique.

1.1.3. Lésions HPV-induites associées aux VIN classiques

30 patientes avaient une atteinte vulvaire isolée (75%) et 10 patientes avaient une atteinte génitale extra-vulvaire associée (anale, vaginale ou cervicale) (25%).

Le tableau 6 décrit les éventuelles autres lésions dues à HPV. Une patiente avait souvent des lésions HPV-induites sur plusieurs localisations.

VIN classiques n = 39	
Condylomes vulvaires	8 (21%)
Atteinte anale	9 (23%)
Condylomes anaux	4 (10%)
Néoplasie intra-épithéliale anale	6 (15%)
Carcinome épidermoïde anal	2 (5%)
Atteinte vaginale	1 (3%)
Néoplasie intra-épithéliale vaginale	1 (3%)
Atteinte cervicale utérine	5 (13%)
Condylome	2 (5%)
CIN	2 (5%)
Carcinome épidermoïde cervical	1 (3%)
FCU normal	24 (62%)
FCU non connu	10 (26%)

Tableau 6. Eventuelles lésions HPV-induites associées.

Les FCU avaient été réalisés pour 29 patientes, dans un délai compris entre 8 ans avant et 1 an après la date du prélèvement histologique vulvaire. Seules 13% des patientes avaient une atteinte cervicale associée confirmée par l'examen histologique.

Cinq patientes avaient bénéficié d'un génotypage HPV sur FCU. Deux d'entre elles étaient porteuses d'un HPV 16 et une avait une multi-infection à HPV 16 56 et 59. Il n'avait pas été détecté d'HPV chez les deux dernières.

1.1.4. Description histologique des lésions de VIN classique

Le graphique 13 décrit les sous-types de VIN classique.

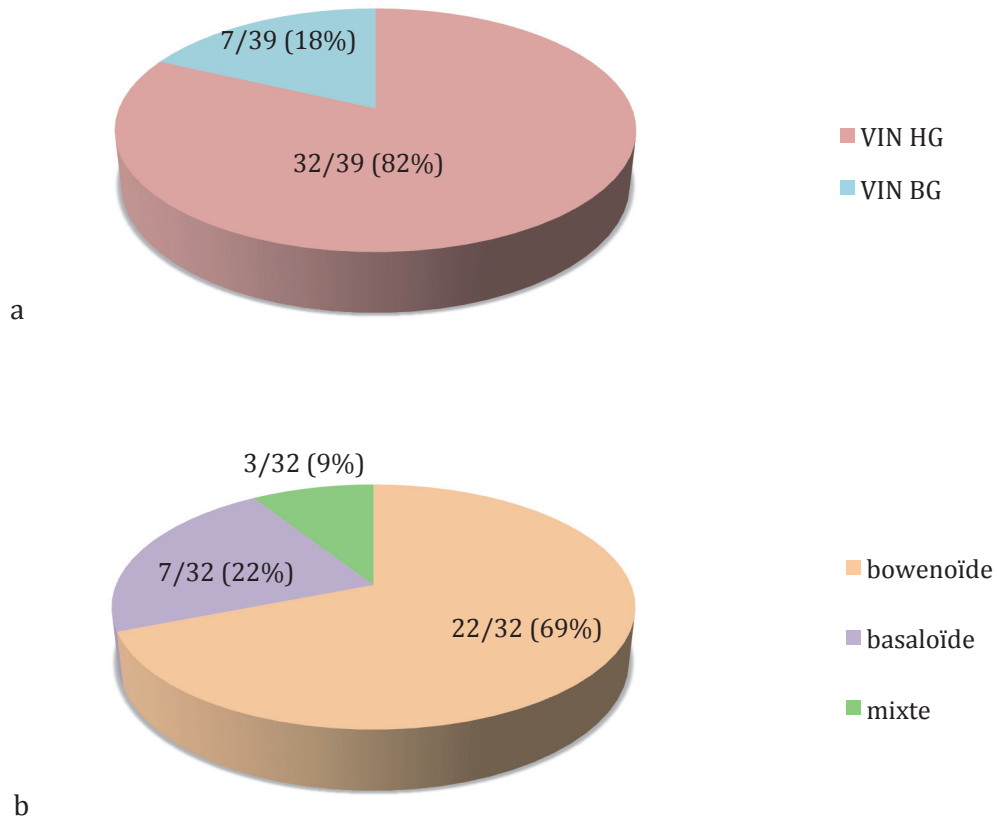


Figure 13. Description histologique des VIN classiques.

13a. Distribution des VIN classiques selon le grade.

13b. Distribution des sous-types de VIN HG.

Un cas de VIN mixte avec du haut grade et du bas grade a été classé en haut grade.

1.1.5. Résultat de l'examen immunohistochimique p16 dans les VIN classiques

Dans les VIN classiques, l'immunomarquage p16 était positif dans toutes les VIN HG (32/32 100%) et positif dans 3 VIN BG sur 7 (43%).

1.2. Description du cas de la VIN différenciée

La patiente présentant une VIN différenciée avait 74 ans. Elle souffrait d'un lichen scléreux vulvaire. Elle ne présentait pas de pathologie ni de traitement immunosuppresseur. La VIN différenciée atteignait diffusément la vulve. Il existait, sur la pièce de vulvectomy partielle intéressant la petite lèvre, un carcinome épidermoïde invasif associé à la VIN différenciée. L'aspect clinique de la VIN n'était pas précisé dans le dossier clinique informatisé.

Cette patiente ne présentait pas de lésion gynécologique due à HPV. Son FCU était normal.

L'immunomarquage p16 était négatif. L'examen immunohistochimique Ki67 montrait une augmentation des cellules en cycle au niveau du tiers basal.

Cette patiente est décédée de ses lésions vulvaires.

2. Résultats du génotypage HPV

2.1. Rendement du génotypage

Lors du premier passage, pour 11 prélèvements, l'ADN extrait n'était pas de qualité suffisante d'après le contrôle interne. Conformément au protocole défini (Cf. Matériels et Méthodes, chap. 3.6.5), la technique était réitérée sur un autre bloc ce qui a permis d'obtenir un examen contributif pour 3 patientes : 2 patientes qui étaient finalement porteuses d'un HPV 16 et 1 patiente pour laquelle il n'a pas été détecté d'HPV. Au total, la technique avait donc un rendement de 83% (40/48).

Pour 8 prélèvements, la technique demeurait non contributive. Ces prélèvements étaient constitués de 6 VIN classiques et 2 VIN différenciées, dont 5 biopsies (soit 62,5% des prélèvements non contributifs versus 58% pour les prélèvements contributifs), 2 vulvectomies partielles et une vulvectomie totale. La durée de stockage de ces blocs variait de 15 à 37 mois (31 mois en moyenne contre 23 mois pour les prélèvements contributifs).

2.2. Prévalence globale de l'infection à HPV

Dans le cas d'un résultat négatif avec témoins valides, conformément au protocole défini (cf Matériels et Méthodes, chap. 3.6.5.), la technique était également renouvelée. Parmi les 9 cas initialement négatifs, 5 ont finalement pu être génotypés.

Au moins un type d'HPV a été détecté dans 35 cas sur les 40 cas des VIN pour lesquels la technique était valide. La prévalence globale de l'HPV dans les VIN était donc de 88%.

2.2.1. Prévalence de l'infection à HPV dans la VIN différenciée

Dans le cas de la VIN différenciée, aucun HPV n'a été détecté.

2.2.2. Prévalence de l'infection à HPV dans les VIN classiques

Dans le groupe des VIN classiques, la prévalence de l'infection à HPV était de 90% (35/39), 100% (7/7) dans les VIN BG et 88% dans les VIN HG (28/32).

Pour les patientes dont le résultat du génotypage était négatif, la moyenne d'âge était de 42 ans contre 53 ans pour les patientes dont le génotypage était positif.

Parmi les 4 patientes pour lesquelles le résultat du génotypage était négatif, 3 patientes étaient infectées par le VIH (75%) alors que la proportion de patientes VIH positives dans le groupe de patientes au génotypage positif était de 14% (5/35). De même, concernant les hépatites virales, les proportions étaient respectivement de 100% (4/4) et 14% (5/35).

2 patientes sur les 4 avaient un carcinome épidermoïde associé aux lésions de VIN (50% versus 4/35 soit 11%)

Chez les patientes dont le résultat du génotypage était négatif, la proportion de cas de VIN diffuse vulvaire était de 25% (1/4). Chez les patientes au résultat positif, elle était de 37% (13/35).

L'étude du sous-type histologique basaloïde ou bowenoïde ne montrait pas de différence concernant le statut du génotypage HPV.

Il n'existait aucun cas d'atteinte génitale extra-vulvaire associée chez les patientes négatives. Les patientes porteuses d'HPV avaient dans 29% des cas (10/35) une atteinte génitale extra-vulvaire associée.

2.3. Proportion des génotypes d'HPV dans les VIN classiques

Un HPV HR était retrouvé dans 79 % des VIN classiques (57% des VIN BG et 84% des VIN HG).

Une multi-infection était observée dans 15% des cas.

Le tableau 7 décrit la distribution des génotypes d'HPV retrouvés dans les VIN classiques.

	VIN BG n = 7	VIN HG n = 32
Absence d'HPV détecté	0	4/32 (12%)
HPV BR	3/7 (43%) HPV 6 (n = 3)	0
HPV RI	0	1/32 (3%) HPV 66 (n=1)
HPV HR	3/7 (43%) HPV 16 (n = 3)	22/32 (69%) HPV 16 (n = 19) HPV 33 (n= 1) HPV 56 (n = 1) HPV 58 (n = 1)
Multi-infection	1/7 (14%) HPV 16 40 56 (n = 1)	5/32 (16%) HPV 11 82 (n = 1) HPV 16 40 (n = 1) HPV 33 42 56 59 73 (n = 1) HPV 16 31 56 39 53 (n = 1) HPV 52 70 (n=1)

Tableau 7. Distribution des types d'HPV dans les VIN classiques.

En vert, les HPV BR

En bleu, les HPV RI

En rouge, les HPV HR

5 patientes souffraient d'un lichen scléreux vulvaire sur VIN classique (13%). 2 n'avaient pas d'HPV détecté (2 VIN HG) et 3 étaient porteuses d'un HPV 16 (2 VIN BG et 1 VIN HG).

Le diagramme 14 montre la proportion des principaux génotypes d'HPV dans les VIN classiques (n=39).

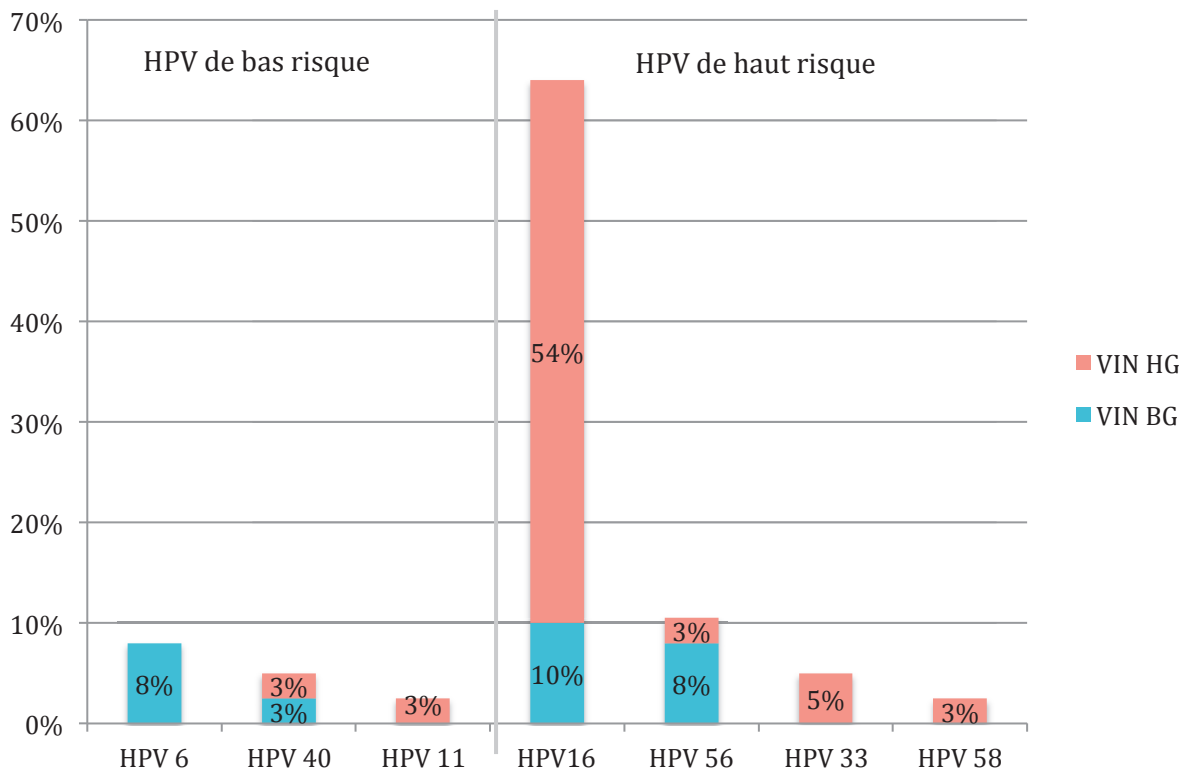


Figure 14. Distribution des principaux génotypes d'HPV.

2.3.1. Etude des sous-types histologiques de VIN HG

Dans les VIN HG, sur les 7 cas de sous-type histologique basaloïde, 5 présentaient une mono-infection (72%), 1 présentait une poly-infection (14%) et 1 n'avait pas d'HPV détecté (14%).

Sur les 22 VIN de sous-type bowenoïde, 15 étaient des mono-infections (68%), 4 présentaient une multi-infection (18%) et 3 n'avaient pas d'HPV détecté (14%).

Le sous-type histologique (bowenoïde versus basaloïde) n'était pas corrélé à un type d'HPV particulier.

2.3.2. Etude du sous-groupe des poly-infectées

Sur les 5 patientes poly-infectées, 1 avait une VIN BG et 4 une VIN HG. Leur moyenne d'âge était de 38 ans (contre 55 ans pour le groupe des mono-infectées). Ce sous-groupe comprenait la patiente la plus jeune de la cohorte (19 ans), et qui avait le plus grand nombre d'HPV détectés (5 géotypes différents). Une seule était immunodéprimée par le VIH.

2.3.3. Résultat du génotypage en fonction du statut immunitaire

Parmi les 12 patientes immunodéprimées, 9 étaient infectées par HPV (75%) et 3 patientes n'avaient pas d'HPV détecté (25%). Lorsqu'il était détecté, l'HPV était de génotype 16 (n=5 42%), 33 (n=1), 6 (n=1), 66 (n=1) ou multiple (HPV 52 et HPV 70 n=1 8%). Parmi les 27 patientes immunocompétentes, 26 étaient infectées par HPV (96%), 1 n'avait pas d'HPV détecté (4%). 17 étaient infectées par HPV 16 (63%) et 5 patientes étaient multi-infectées (19%).

Parmi les 8 patientes séropositives pour le VIH, 3 avaient un génotypage négatif (37%) et 1 était multi-infectée (13%). Parmi les 31 patientes séronégatives pour le VIH, 1 avait un génotypage négatif (3%) et 5 étaient multi-infectées (16%).

2.3.4. Résultat du génotypage en fonction d'une atteinte génitale extra-vulvaire associée due à HPV

Parmi les 10 patientes présentant d'autres lésions génitales extra-vulvaires dues à HPV, toutes avaient un HPV détecté au niveau vulvaire. Les HPV détectés étaient des HPV 16 (n=7), 33 (n=1), 6 (n=1), et une multi-infection à HPV 52 et 70.

Parmi les 29 patientes avec une atteinte vulvaire isolée, 25 avaient un HPV détecté au niveau vulvaire (86%), 4 n'avaient pas d'HPV détecté (14%).

2.4. Comparaison entre le géotypage HPV et p16

Parmi les 7 VIN BG, la p16 était positive dans les 3 cas où un HPV HR était détecté (HPV 16 43%). La p16 était négative dans les 3 cas où un HPV BR était détecté (HPV 6 43%) mais aussi dans le cas d'une multi-infection comprenant des HPV HR (HPV 16, 40 et 56 14%).

Parmi les 32 VIN HG, la p16 était toujours positive. Ces cas étaient associés à des HPV HR, des HPV RI ou des multi-infections avec des HPV HR.

2.5. Comparaison du résultat du géotypage sur FCU et sur prélèvement vulvaire

Les 2 patientes mono-infectées par HPV 16 au niveau cervical l'étaient aussi au niveau vulvaire. La patiente multi-infectée par HPV 16, 56 et 59 au niveau cervical était aussi multi-infectée au niveau vulvaire par HPV 16, 56 et 40. Parmi les 2 patientes qui n'avaient pas eu d'HPV détecté sur le FCU, l'une n'avait pas non plus d'HPV détecté sur le prélèvement vulvaire, l'autre avait un HPV 16.

Discussion

1. Résultats principaux

1.1. Prévalence de l'infection à HPV

L'HPV a été détecté dans 88% de l'ensemble des VIN :

- La prévalence dans les VIN classiques était de 90%
- Aucun HPV n'avait été détecté dans la VIN différenciée.

Dans la méta-analyse de De Vuyst publiée en 2008, la prévalence d'HPV dans les VIN classiques était comparable (84%).³³ Les auteurs y reprenaient 63 études analysant la distribution des types d'HPV, dans les VIN classiques et les carcinomes vulvaires, chez 1197 patientes. Ces études avaient été publiées entre 1986 et 2008 et concernaient les 5 continents mais plus particulièrement l'Europe (34 études européennes). Les conditions pré-analytiques et analytiques n'étaient pas standardisées, puisque issues de nombreuses études. Les prélèvements cytologiques étaient exclus, mais le type de prélèvement histologique sur lequel ces équipes avaient travaillé n'était pas précisé. La détection de l'ADN HPV se faisait par PCR. Le gène amplifié n'était pas spécifié. Cette étude donne néanmoins une tendance épidémiologique fiable.

1.2. Distribution des géotypes d'HPV

L'HPV 16 était le géotype prédominant avec une prévalence de 64% dans notre étude. Dans la publication de De Vuyst, sa prévalence était de 72%.³³ La fréquence de l'HPV 16 croissait avec la sévérité des lésions de VIN dans notre étude (10% dans les VIN BG contre 54% dans les VIN HG), comme dans la méta-analyse de De Vuyst (9,8% contre 71,9% respectivement)³³ et comme dans le col (28% pour les CIN 1, 40% pour les CIN 2 et 58% pour les CIN 3 dans la méta-analyse de Guan de 2012).⁵⁰ Cela confirme que l'HPV 16 est un HPV HR dans les lésions vulvaires.

Dans la littérature, L'HPV 16 est détecté dans 32,2% des carcinomes épidermoïdes vulvaires.³³ Cette donnée est basée sur tous les carcinomes épidermoïdes vulvaires, qu'ils soient de type bowénoïde, basaloïde ou bien différencié kératinisant. En comparaison, la méta-analyse de Guan mettait en évidence de l'HPV 16 dans 66,7% des carcinomes du col de l'utérus en Europe.⁵⁰ Une forte prédominance d'HPV 16 a également été rapportée dans les carcinomes épidermoïdes ORL (30,9% des cancers de l'oropharynx, 16% des cancers de la cavité buccale, et 16,6% des cancers du larynx).⁵¹

Le 2^{ème} HPV retrouvé en terme de fréquence était l'HPV 56 (11%); il était surtout présent dans les VIN HG (8%). Dans l'article de De Vuyst, la prévalence exacte de l'HPV 56 n'était pas détaillée.

L'HPV 6 était le 3^{ème} HPV en proportion (8%). Il s'agit d'un HPV BR et il n'a été retrouvé que dans les VIN BG. Dans la méta-analyse de De Vuyst, l'HPV 6 était représenté dans environ 22,4% des VIN BG. Sa prévalence n'était pas détaillée dans les VIN HG.³³

Les autres HPV prédominants étaient les HPV 40, 33 et 58, avec une prévalence respective de 6%, 5% et 3%. L'HPV 40 est un HPV BR que nous avons retrouvé uniquement dans les VIN BG.

L'HPV 18 n'a pas été détecté dans notre série. Il semble être plus rare dans les lésions vulvaires que dans les lésions cervicales. Dans la méta-analyse d'Insinga, sa prévalence était de 4,8% dans les CIN

et de 17,7% dans les cancers cervicaux (10,5% dans les carcinomes épidermoïdes contre 40,8% dans les adénocarcinomes).⁵² Il a un tropisme plus glandulaire et donne plutôt naissance à des adénocarcinomes.⁵³

Dans notre étude, une multi-infection était observée dans 15% des cas (14% des VIN BG et 16% des VIN HG). De Vuyst précisait que la multi-infection décroît de 13,4% pour les VIN BG à 2,8% dans les carcinomes épidermoïdes vulvaires.³³ Pour Srodon qui a génotypé 33 cas de VIN BG et 34 de haut grade par PCR sur tissus fixés et inclus en paraffine, 21% des VIN BG et 12% des VIN HG présentaient plusieurs types d'HPV.⁵⁴ Nos données apparaissent concordantes avec celles de la littérature.

La distribution des HPV dans le col et dans la vulve est donc différente, avec notamment une forte prédominance de l'HPV 16 dans la vulve. La nature de l'épithélium vulvaire et plus particulièrement son caractère kératinisant sur le versant cutané, pourrait expliquer un tropisme différent selon les génotypes. De plus, les muqueuses vaginales, anales et cervicales montrent une plus grande hétérogénéité des génotypes d'HPV.³³

1.3. Confrontation du génotype HPV aux paramètres cliniques

La moyenne d'âge des patientes poly-infectées était de 38 ans contre 55 pour les mono-infectées. La plus jeune patiente de la cohorte avait 19 ans et 5 génotypes différents détectés. Le contact avec les génotypes d'HPV muqueux a lieu tout particulièrement au début de la vie sexuelle car il s'agit d'une infection ubiquitaire.⁵⁵ L'évolution se fait la plupart du temps vers la guérison, conférant un état d'immunité acquise.⁵⁶ Une minorité des infections à HPV va se traduire par une lésion intra-épithéliale. L'évolutivité lésionnelle est très dépendante du type d'HPV infectant. Les virus à bas risque sont éliminés plus rapidement que ceux à haut risque.⁵⁶ La vaccination prend donc tout son sens avant le début de la vie sexuelle.

La population étudiée était aussi constituée d'un nombre important de patientes infectées par le VIH ou prenant des traitements immunosuppresseurs. Le statut immunitaire est un facteur de risque connu.⁵⁷ Dans l'étude prospective de Frisch, incluant 50 000 femmes séropositives pour le VIH, le risque relatif de carcinomes *in situ* et invasifs de la vulve était respectivement de 3,9 (CI 95% = 2-7) et 5,8 (CI 95% = 3-19,2).⁵⁷ Non seulement l'HPV et le VIH sont 2 virus de transmission sexuelle, mais les HPV sont également moins bien éliminés par le système immunitaire en cas d'immunodépression.

L'immunodépression n'était pas liée à un génotype particulier ni à la multi-infection.

Le site anatomique, le caractère diffus de la VIN, la présence d'autres lésions génitales dues à HPV ou la présence d'un carcinome épidermoïde associé n'étaient pas liés à un génotype particulier.

1.4. Confrontation du génotype HPV aux paramètres histologiques

Les VIN sont très hétérogènes sur le plan histologique. Cette caractéristique implique une bonne cartographie des lésions étendues et multifocales.

Le sous-type bowénoïde est prédominant dans les VIN. Cette caractéristique l'oppose aux CIN qui sont très majoritairement basaloïdes. En cela, la vulve se rapproche plus d'un revêtement cutané que muqueux.

Le sous-type histologique n'était, par contre, pas lié à un type d'HPV particulier.

L'immunomarquage p16 était toujours positif dans les VIN HG qui étaient elles-mêmes toujours dues à des HPV HR.

Dans les VIN BG, le marquage immunohistochimique p16 était positif dans 3 cas sur 7. Dans un seul cas, l'immunomarquage p16 négatif dans une VIN BG était associé à un HPV HR (une multi-infection à HPV 16, 40 et 56).

Nos données confirment donc celles de la littérature selon lesquelles l'immunohistochimie p16 est un marqueur fiable, sensible et spécifique, de la présence d'un HPV HR dans les lésions de VIN.⁵⁸

1.5. HPV et lichen scléreux

Au sein de notre population, on retrouvait 6 patientes atteintes de lichen scléreux. 1 cas survenait dans un contexte de VIN différenciée et 5 cas dans un contexte de VIN classique (13%). 3 diagnostics de lichen scléreux avaient été portés lors de l'examen anatomo-pathologique initial et 3 cas ont été diagnostiqués lors de cette étude par l'examen attentif du tissu conjonctif puis la réalisation de la coloration de Verhoeff. Pour les 5 patientes atteintes d'une VIN classique, 2 avaient un génotypage négatif (2 VIN HG) et 3 étaient infectées par un HPV 16 (2 VIN BG et 1 VIN HG).

13% des cas de VIN classique se sont donc développés sur lichen scléreux. Il a longtemps été admis que les lésions de lichen scléreux ne pouvaient être associées à une VIN classique. Ce dogme est aujourd'hui remis en question par certains auteurs. Van Seters rapporte en 2007 27 cas de VIN classique (10 VIN 1, 11 VIN 2 et 6 VIN 3) associés à un lichen scléreux. La VIN survenait la plupart du temps après le diagnostic de lichen scléreux. 7 contenaient de l'HPV 16 et 1 de l'HPV 59, les autres étaient négatives pour HPV.⁵⁹ Il s'agissait seulement de la 2^{ème} étude rapportant cette association.

Au sein des lésions de lichen scléreux, il existe souvent cliniquement des zones érosives induites par le grattage ou des fissures favorisées par l'étirement, et constituant une potentielle porte d'entrée pour le virus. Le lichen scléreux étant une pathologie dysimmunitaire, il pourrait aussi être un facteur déclenchant de la réactivation d'une infection latente à HPV. A l'inverse, l'infection par HPV créant une inflammation, on peut imaginer qu'elle puisse être pourvoyeuse de lichen scléreux. Par ailleurs, l'existence de ces lésions de collision rend le diagnostic histologique d'autant plus difficile. La mise en évidence d'un lichen scléreux ne permet donc pas d'exclure une VIN classique. Devant la fréquence de l'association entre ces 2 lésions, une coloration de Verhoeff systématique peut être discutée dans la séquence diagnostique anatomo-pathologique, outre les immunomarquages p16 et Ki67, ceci afin de mettre en évidence un lichen scléreux dont les signes histologiques ne sont pas toujours évidents.

1.6. Confrontation des lésions vulvaires et cervicales

Sur les 35 patientes pour lesquelles un HPV était détecté et pour lesquelles un résultat de FCU était disponible, seulement 13% présentaient un FCU anormal. Dans la publication de McNally, 25% des patientes des patientes suivies pour une VIN 3 avaient un antécédent de CIN.⁶⁰ L'atteinte vulvaire était le plus souvent isolée (dans 75% des cas) et n'impliquait pas la muqueuse cervicale qui est pourtant une zone de fragilité mécanique et immunitaire avec une mauvaise présentation antigénique par les cellules dendritiques cervicales. La composition différente en kératine du revêtement vulvaire et de la muqueuse cervicale pourrait être à l'origine d'une susceptibilité différente à l'infection HPV.

L'étude étant rétrospective, les FCU n'ont malheureusement pas tous été réalisés simultanément avec le prélèvement vulvaire. Les FCU avaient été réalisés entre 8 ans avant et 1 an après le prélèvement vulvaire. Il est donc possible que le virus ait infecté transitoirement le col puis ait été éliminé, ou qu'il y soit présent à l'état latent.

Le nombre réduit de FCU récoltés et le délai de leur réalisation par rapport à la date du prélèvement vulvaire ne permettent pas d'établir un lien entre l'atteinte vulvaire et cervicale. Cette donnée reste tout de même intéressante et nécessiterait une étude prospective dans laquelle le FCU serait réalisé de manière concomitante au prélèvement vulvaire.

2. Evaluation des techniques

2.1. Résultats non contributifs

Sur un total de 48 prélèvements pour lesquels nous avons effectué le génotypage, 40 avaient un examen contributif. Lorsque le contrôle qualité d'échantillon de la puce *Papillocheck*® était négatif, les contrôles de PCR et d'hybridation l'étaient aussi. Il s'agit donc d'une technique robuste avec de multiples systèmes de contrôle. Il convient aussi de souligner que la puce *PapilloCheck*® n'est pas conçue pour les prélèvements issus de tissus fixés et inclus en paraffine. Le rendement était par conséquent très satisfaisant.

La technique de fixation formolée était standardisée (fixation au formol neutre tamponné à 10% et durée de fixation inférieure à 48h pour les biopsies et à 72h pour les pièces de vulvectomie).

L'ADN se dégrade au cours du temps et en fonction des conditions de stockage.⁶¹ De ce fait, nous avons pris le parti d'inclure des patientes prises en charge au cours des 4 dernières années. Ceci assurait un rendement optimal de la technique au détriment de l'effectif de la cohorte. Les effectifs ne sont pas suffisants pour que ces données puissent être statistiquement significatives. Toutefois, sur une durée d'un peu plus de 4 ans, la performance de la technique apparaît indépendante de la durée de conservation de nos échantillons, puisque la moyenne de la durée de conservation pour les prélèvements contributifs et non contributifs était respectivement de 23 et 31 mois.

Nous avons contrôlé la qualité de l'ADN de l'échantillon en effectuant, pour ces cas aux résultats non contributifs, une PCR du gène de la bêta-globine. Le gène de la bêta-globine est d'expression ubiquitaire, il est classiquement utilisé en PCR comme témoin de la qualité de l'ADN extrait. Ce test a permis de confirmer la qualité de l'ADN extrait. Cette approche ne permet toutefois pas de qualifier l'ADN viral épisomal probablement plus fragile. Nous avons aussi effectué des tests de dilution du produit d'extraction de l'ADN mais sans impact sur le résultat.

Ces cas peuvent s'expliquer par l'effet de la fixation formolée. Le formol induit la formation d'adduits protéine-ADN irréversibles. Ces lésions peuvent entraîner la perte de l'ADN lors de l'étape d'extraction car les adduits protéines-ADN sont éliminés durant la phase de purification. D'autre part, ces adduits empêchent l'amplification lors de la PCR.⁶¹ Dans les groupes pour lesquels la technique était contributive et non contributive, la proportion de prélèvements biopsiques était respectivement de 57% et 62%. Ni le type de prélèvement, ni la durée de fixation ne semblent donc être en cause dans ces résultats non contributifs.

Au total, nous avons obtenu un rendement de génotypage de 83% et aucun facteur prédictif de résultat non contributif ne semble s'imposer, ni le type de prélèvement, ni la durée de fixation, ni la durée de stockage. Seulement 5 études ayant réalisé un génotypage HPV sur tissus vulvaires fixés et inclus en paraffine ont été publiées. Leur rendement oscillait entre 80 et 90%.^{29 39 54 62 63} Ces études sont cependant difficiles à comparer car très hétérogènes. Leur effectif variait de 17 à 587 patientes. Elles utilisaient des méthodes différentes de génotypage (amplification par PCR du gène L1 de 4 à 54 types d'HPV avec différents *primers* et différentes techniques de révélation)

2.2. Résultats négatifs

Dans notre étude, 9 cas ont dû être testés 2 fois car le premier résultat montrait des témoins valides mais aucun HPV détecté. Même à l'issue de ces tests itératifs sur 2 blocs différents, 5 patientes demeurent négatives soit 10% (dont la VIN différenciée).

Chez une même patiente, les lésions de VIN sont, comme le montrent les coupes histologiques, discontinues et souvent hétérogènes. Ceci pourrait expliquer que le changement de bloc en cas d'absence de détection d'HPV avec un témoin ADN positif permette finalement d'isoler un type d'HPV.

Dans la méta-analyse de De Vuyst 32,2% des VIN BG et 14,7% des VIN HG sont HPV négatives.³³ Dans notre étude, aucune VIN BG n'était négative. L'étude de Bryant qui utilisait notre technique de génotypage *PapilloCheck*® sur tissus fixés dans un liquide de conservation pour prélèvement cytologique avait un taux de résultats négatifs de 17,3% (proportion dans les VIN BG et HG non détaillée).⁶⁴

Il ne s'agissait pas d'un défaut de conservation de l'ADN viral ou de la présence d'inhibiteurs dans le mélange des réactifs de PCR puisque tous nos cas étaient validés par des témoins d'échantillon, de PCR et d'hybridation.

La charge virale est importante au début de l'infection, à la phase productive, quand l'ADN viral est sous forme épisomale et au stade de cancer lorsque les cellules dérivent du même clone. Au stade intermédiaire de dysplasie, les cellules peuvent, dans certains cas, être infectées par un nombre faible de copies d'ADN viral mais exprimer une grande quantité d'ARN messager E6 et E7.² L'ADN viral est alors indétectable. De plus, le pourcentage de cellules tumorales variait de 10 à 50% en fonction des échantillons et une cellularité tumorale faible rend la détection d'ADN difficile.

La puce détecte 25 types d'HPV qui sont ceux principalement retrouvés dans les lésions cervicales des populations européennes. Il est possible que ces patientes négatives soient issues d'une

population contaminée par des génotypes d'HPV peu fréquents en Europe ou par des génotypes spécifiquement vulvaires, non testés sur la puce. Une possibilité d'optimisation de la technique reposerait donc sur un élargissement du spectre des types d'HPV détectés.

La détection du génome viral se faisait sur le gène E1. Il a été montré que lors du processus de carcinogénèse, l'ADN viral est clivé. Ce point de clivage est variable.⁶⁵ S'il se situe sur la séquence de E1 amplifiée par le système *PapilloChek*®, la PCR n'amplifie pas cette séquence tronquée et l'ADN viral n'est pas détecté. Cette hypothèse est appuyée par le fait que tous les résultats négatifs sont observés sur des lésions de haut grade, lésions au sein desquelles l'ADN viral a plus de probabilité d'être intégré au génome cellulaire. Un génotypage HPV négatif pourrait donc être prédictif d'une intégration du génome de l'HPV au génome de la cellule hôte et donc de pronostic péjoratif, au même titre que la détection d'un HPV HR. Pour Van de Nieuwenhof et Alonso, il n'existe pas de différence de pronostic entre des carcinomes épidermoïdes vulvaires invasifs HPV-positifs et HPV-négatifs.^{48 66}

Le choix d'une technique de PCR amplifiant le gène E1 permet toutefois de minimiser ces faux négatifs dus à une recombinaison génétique. En effet, la recombinaison génétique survient plus fréquemment sur le gène L1, amplifié par les autres kits de détection, que sur le gène E1.⁶⁵

Pour pallier à cette difficulté, une nouvelle méthode de détection amplifiant les oncogènes E6 ou E7 est en cours de validation.

La forte proportion de patientes immunodéprimées et séropositives pour le VIH pourrait suggérer une épidémiologie virale différente de ces populations. L'étude de Gonçalves a montré un spectre d'HPV plus large chez les patientes brésiliennes infectées par le virus du SIDA.⁶⁷

3. Classification ISSVD 2005

La confusion concernant la terminologie explique la difficulté d'analyser les études publiées et d'en réaliser une synthèse. Nous avons choisi d'utiliser la classification de l'OMS 2014 car elle est encore largement utilisée et permet d'inclure des VIN BG afin de faire une analyse épidémiologique exhaustive.

Dans la publication de Logani, 70% des VIN BG étaient dus à des HPV BR.³⁹ Dans la méta-analyse de De Vuyst 22,4% des VIN BG contenaient de l'HPV 6, 9% de l'HPV 11 mais aussi 9,8% de l'HPV 16 (HPV HR).³³ Cela va plutôt dans le sens de la nouvelle classification internationale de l'ISSVD²⁴ qui exclue les VIN BG. Il s'agirait de lésions bénignes et le terme « néoplasie intra-épithéliale » serait trompeur. Les VIN BG désignent des lésions avec atypies légères basales. Leur difficulté diagnostique est bien illustrée par l'étude de Van Beurden. Dans cet article, 44% des biopsies initialement diagnostiquées comme normales sur HE étaient reclassées après relecture avec immunomarquage Ki67 en VIN BG et 40% des biopsies initialement étiquetées VIN BG sur HE étaient reclassées normales après immunomarquage Ki67.⁶⁸ Cette étude confirme la nécessité du recours à l'immunohistochimie p16 et Ki67 dans le diagnostic des VIN, comme le recommande l'OMS.²⁶

Ces lésions, qui ne font plus partie des VIN à proprement parler dans la nouvelle classification internationale, étaient, dans notre étude, associées à des HPV HR dans 57% des cas. Le diagnostic des 7 cas de VIN BG était certain car l'exérèse emportait toute la lésion et la pièce d'exérèse était analysée en totalité. Les VIN BG s'opposent en cela aux CIN 1 qui sont dus à des HPV HR la plupart du temps. Dans la méta-analyse de Insinga, seulement 10% des CIN 1 sont dus à des HPV BR.⁵² On peut alors émettre l'hypothèse que de telles lésions de bas grade, contenant des HPV HR, évoluent vers d'authentiques VIN HG. Les VIN BG contenant des HPV BR sont cliniquement et histologiquement indiscernables des VIN BG contenant des HPV HR. Un génotypage HPV deviendrait intéressant s'il mettait en évidence un HPV HR, ces patientes seraient à surveiller plus étroitement.

4. Perspectives

Notre étude contribue à la connaissance de l'épidémiologie des HPV dans la vulve en identifiant, grâce au système *PapilloCheck*®, 25 génotypes différents. Notre technique est novatrice et n'a jamais été publiée sur des prélèvements vulvaires fixés au formol et inclus en paraffine.

Il s'agit d'une maladie rare pour laquelle la majorité des études travaille malheureusement sur de petits effectifs, avec des résultats souvent uniquement descriptifs.

Le caractère unicentrique de cette étude induit inévitablement un biais de recrutement car la population étudiée est un échantillon de femmes se faisant suivre au CHU, dans la région niçoise. La forte proportion de patientes immunodéprimées dans notre cohorte témoigne certainement de ce biais de sélection géographique et social. Une étude prospective impliquant plusieurs centres permettrait de pallier l'effectif réduit et le biais de sélection.

Cette technique de génotypage de l'HPV est un outil nouveau et puissant mais présente des limites. Il est nécessaire de réitérer la technique en sélectionnant un autre bloc, en cas de résultat non contributif mais aussi en cas de résultat négatif. Sur les 5 études publiées sur le génotypage HPV réalisé sur prélèvements vulvaires fixés et inclus en paraffine, 2 études effectuaient 2 techniques différentes de génotypage afin de diminuer le nombre de résultats négatifs.

Il s'agissait d'une étude rétrospective dont les limites techniques diminuaient le nombre de résultats contributifs. L'effectif de départ de 48 patientes était réduit à 40, ce qui ne permet pas d'analyse statistique et les résultats restent descriptifs. Une étude prospective sur prélèvements à l'état frais ou congelés pourrait faire l'objet de la suite de ce projet.

Wilkinson montre que dans les lésions multifocales, chaque lésion provient d'un clone différent. Les lésions étendues confluentes résulteraient d'une extension centrifuge d'un seul clone cellulaire ou de la confluence de différents clones séparés.⁶⁹ Il peut donc être également pertinent de réaliser un génotypage sur plusieurs échantillons d'un même sujet.

Conclusion

Notre étude, par ses résultats comparables à ceux de la littérature, valide la méthode de génotypage développée sur prélèvements cervicaux fixés et inclus en paraffine. Cette technique est applicable aux prélèvements vulvaires.

La prévalence de l'HPV dans les VIN classiques était de 90%. Les HPV HR étaient retrouvés dans 79% des cas (57% des VIN BG et 84% des VIN HG). On retrouvait une forte prévalence de l'HPV 16 (64%). Notre étude montrait un taux important de multi-infection chez les jeunes patientes. Un génotypage négatif s'observait plus fréquemment dans les VIN HG. Des études complémentaires sont cependant nécessaires pour préciser ces données.

Notre approche multidisciplinaire a permis de préciser la prise en charge des VIN aussi bien sur le plan clinique qu'anatomo-pathologique ou virologique.

L'hétérogénéité histologique des lésions de VIN nécessite une cartographie correcte des lésions multifocales ou étendues.

En cas de suspicion de VIN, les traditionnels immunomarquages p16 et Ki67 doivent être complétés, au laboratoire d'anatomo-pathologie, par une coloration de Verhoeff systématique.

Sur le plan virologique, un génotypage des VIN BG serait à discuter. Si un HPV HR était détecté, la surveillance clinique devrait être accrue. Un élargissement du spectre de détection pourrait aussi être nécessaire pour mettre en évidence d'éventuels HPV à tropisme vulvaire.

Plusieurs points restent cependant à élucider, notamment la forte proportion de lésions vulvaires isolées, l'association entre le lichen scléreux et les VIN classiques et l'éventualité d'une progression des VIN BG dues à des HPV HR vers des VIN HG.

Résumé

Introduction. Les néoplasies intra épithéliales vulvaires (VIN) sont les précurseurs des carcinomes épidermoïdes vulvaires. Notre objectif était de valider une technique de génotypage sur prélèvements vulvaires fixés au formol et inclus en paraffine et de définir les caractéristiques cliniques, histologiques et virologiques des VIN.

Méthodes. Nous avons réalisé une étude observationnelle, rétrospective, des cas de VIN diagnostiqués dans le laboratoire central d'anatomo-pathologie du CHU de Nice entre le 1^{er} janvier 2010 et le 10 avril 2014. Nous avons effectué un génotypage des papillomavirus humains (HPV) par *polymerase chain reaction* grâce au système *PapilloCheck*® et nous avons confronté ces résultats aux données anatomo-cliniques.

Résultats. 40 cas de VIN ont été étudiés. Il n'a pas été détecté d'HPV dans la VIN différenciée. La prévalence de l'infection HPV dans les 39 cas de VIN classique était de 90%. Parmi les HPV de haut risque, le génotype prédominant était HPV 16 (10% des VIN de bas grade et 54% des VIN de haut grade) puis HPV 56 (3% des VIN de bas grade et 8% des VIN de haut grade) et HPV 33 (5% des VIN de haut grade). Parmi les HPV de bas risque, l'HPV 6 était détecté dans 8% des VIN de bas grade. 25% des patientes avaient une atteinte génitale extra-vulvaire associée. 13% des cas de VIN classiques étaient associés à un lichen scléreux. On observait un taux important de multi-infection chez les patientes jeunes.

Conclusion. Notre étude, concordante avec les données de la littérature, valide cette technique de génotypage. Notre analyse a permis de conclure à la nécessité d'une coloration de Verhoeff systématique dans la séquence diagnostique anatomo-pathologique. Un génotypage des VIN de bas grade serait à discuter car s'il mettait en évidence un HPV HR, ces patientes seraient à surveiller plus étroitement.

Bibliographie

1. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU and Zur Hausen H. Classification of Papillomaviruses. *Virology* 2004;324:17-27
2. Mougín C, Humbey O, Gay C and Riethmüller D. Human papillomaviruses, cell cycle and cervical cancer. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2000;29:13
3. Muñoz N, Bosch X, Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27
4. Franco EL. Understanding the epidemiology of genital infection with oncogenic and nononcogenic human papillomaviruses : a promising lead for primary prevention of cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers* 1997;6:759
5. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Kolmes KK *et al.* Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 2006;354:2645-2654
6. Vaccarella S, Herrero R, Snijders PFJ, Dai M, Thomas JO, Hieu NT *et al.* Smoking and human papillomavirus infection: pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. *Int J Epidemiol* 2008;37(3):536-546
7. Ho GY, Burk RD, Fleming I and Klein R. Risk of genital human papillomavirus infection in women with human immunodeficiency virus-induced immunosuppression. *Int J Cancer* 1994;56:788-92
8. Euvrard S, Kanitakis J, Chardonnet Y, Noble CP, Touraine JL, Faure M *et al.* External anogenital lesions in organ transplant recipients. A clinicopathologic and virologic assessment. *Arch Dermatol* 1997 Feb;133(2):175-8
9. Sellors J, Mahony B, Kaczorowski J, Lytwyn A, Bangura H, Chong S *et al.* Prevalence and predictors of human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. *CMAJ* 2000;163(5):503-8
10. Collège des enseignements en dermatologie de France. Chapitre Tumeurs cutanées épithéliales et mélaniques : tumeurs à papillomavirus humain (HPV). *Dermatologie* 4^e édition. Editions Masson. Collection Abrégés connaissances et pratique 2008. 504 pages
11. Carcopino X, Henry M, Olive D, Boubli L and Tamalet C. Detection and quantification of human papillomavirus genital infections : virological, epidemiological, and clinical applications. *Med Mal Infect* 2011;41:68-79
12. Schelecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA *et al.* Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 2001;286:3106
13. Bousarghin L, Touze A, Sizaret PY and Coursaget P. Human papillomavirus types 16, 31 and 58 use different endocytosis pathways to enter cells. *J Virol* 2003;77:3846
14. Mougín C, Nicolier M et Decrion-Barthod A-Z. HPV et cancer : Mécanismes de l'oncogénèse. *Revue francophone des laboratoires* sept-oct 2008;405:35-42
15. Thomas M, Narayan N, Pim D, Tomaic V, Massimi P, Nagasaka K *et al.* Human papillomaviruses, cervical cancer and cell polarity. *Oncogene* 2008;27:7018-7030
16. Parkin DM and Bray F. The burden of HPV related cancers. *Vaccine* 2006;24supl3:S3/11-25
17. Klaes R, Woerner SM, Ridder R, Wentzensen N, Duerst M, Schneider A *et al.* Detection of high-risk cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by amplification of transcripts derived from integrated papillomavirus oncogenes. *Cancer Res* 1999;59:6132
18. Shu KX, Li B and Wu LX. The p53 network : p53 and its downstream genes. *Colloid Surf B Biointerfaces* 2007;55:10-18
19. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ and Howley PM. The HPV16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993;75:495-505
20. Darbon JM, Fesquet D et Cavadore J-C. De nouveaux régulateurs du cycle cellulaire : les protéines régulatrices des complexes cdk-cyclines. *Medecine/sciences* 1995;11:349-356
21. Dyson N, Howley PM, Munger K and Harlow E. The human papillomavirus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989;243:934-937
22. Parry D, Bates S, Mann DJ and Peters G. Lack of cyclin D-cdk complexes in Rb-negative cells correlates with high levels of p16INK4/MTS1 tumor suppressor gene product. *Embo J* 1995 Feb 1;14(3):503-11
23. Grandchamp B. New tumor suppressor genes intervening in the regulation of the cycle. *Ann Genet* 1994;37(3):117-20

24. Sideri M, Jones RW, Wilkinson EJ, Preti M, Heller DS, Scurry J *et al.* Squamous vulvar intraepithelial neoplasia : 2004 modified terminology, ISSVD Vulvar Oncology Subcommittee. *J Reprod Med* 2005 Nov;50(11):807-10
25. Plantier F et Moyal-Barraco M. Néoplasies intra-épithéliales vulvaires (VIN) dans *Pathologie vulvaire-echo des congrès (USCAP 2008)* Division française académie internationale de pathologie, bulletin n°48 décembre 2008
26. Crum CP, Herrington CS, Mc Cluggage WG, Regauer S and Wilkinson EJ. Epithelial tumours. In Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. *WHO Classification of tumours. Classification of tumours of female reproductive organs 4th edition* published by IARC, Lyon, 2014:232-233
27. Akerman G, Dussour C, Haddad B, Paniel BJ et Rouzier R. Epidémiologie des néoplasies vulvaires intraépithéliales. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité* 2007;35:1251-1256
28. Preti M, Van Seters M, Sideri M and Van Beurden M. Squamous vulvar intraepithelial neoplasia. *Clin Obstet Gynecol* 2005;48(4):845-861
29. De Sanjosé S, Alemany L, Ordi J, Tous S, Alejo M, Bigby SM *et al.* Worldwide human papillomavirus genotype attribution in over 2000 cases of intraepithelial and invasive lesions of the vulva. *Eur J Cancer* 2013;49:3450-3461
30. Joura EA, Lösch A, Haider-Angeler M-G, Breitenacker G and Leodolter S. Trends in vulvar neoplasia. Increasing incidence of vulvar intraepithelial and squamous cell carcinoma of the vulva in young women. *J Reprod Med* 2000;45(8):470-2
31. Zaki I, Daziel K and Solomonsz F. The under-reporting of skin disease in association with squamous cell carcinoma of the vulva. *Clin Exp Dermatol* 1996;21:334-337
32. Wilkinson EJ. Premalignant and malignant tumors of the vulva. In Blaustein A, Kurman RJ *Blaustein's pathology of the female genital tract 5th edition.* Editions Springer-Verlag 2002 p99-108
33. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimiento NC, Madeleine MM and Franceschi S. Prevalence and distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus : A meta-analysis. *Cancer* 2009;124(7):1626-1636
34. Van Seters M, Van Beurden M and De Craen AJ. Is the assumed natural history of vulvar intraepithelial neoplasia III based on enough evidence? A systematic review of 3322 published patients. *Gynecol Oncol* 2005;97(2):645-51
35. Jones RW and Rowan DM. Vulvar intraepithelial neoplasia III : a clinical study of the outcome in 113 cases with relation to the later development of invasive vulvar carcinoma. *Obstet Gynecol* 1994;84:741-745
36. Jones RW and Rowan DM. Spontaneous regression of vulvar intraepithelial neoplasia 2-3. *Obstet Gynecol* 2000;96(3):470-2
37. Rufforny I, Wilkinson EJ, Liu C, Zhu H, Buteral M and Massoll NA. Human papillomavirus infection and p16 (INK4a) protein expression in vulvar intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma. *J Low Genit Tract Dis* 2005;9(2):108-113
38. Santos M, Montagut C, Mellado B, Garcia A, Cajal SR, Cardesa A *et al.* Immunohistochemical staining for p16 and p53 in premalignant and malignant epithelial lesions of the vulva. *Int J Gynecol Pathology* juillet 2004;23(3):206-214
39. Logani S, Lu D, Quint W, Ellenson L and Pirog E. Low-grade vulvar and vaginal intraepithelial neoplasia : correlation of histologic features with Human Papillomavirus DNA detection and MIB-1 immunostaining. *Modern Pathol* 2003;16:735-741
40. Sturgeon SR, Brinton LA, Devesa SS and Kurman RJ. In situ and invasive vulvar cancer incidence trends (1973 to 1993). *Am J Obstet Gynecol* 1992;166(5):1482-5
41. Gondry J, Metayer B, Drean Y, Fauvet R, Collinet P et Leblanc E. Traitement médical et chirurgical des néoplasies intraépithéliales vulvaires (VIN) et des néoplasies intraépithéliales vaginales (VaIN) *Extrait des Mises à jour en Gynécologie et Obstétrique Tome XXXIII* 2009 Collège national des gynécologues et obstétriciens français
42. Yang B and Hart W. Vulvar intra-epithelial neoplasia of the simplex (differentiated) type : a clinicopathologic study including analysis of HPV and p53 expression. *Am J Surg Pathol* 2000;24:429-441
43. Roy M, Ouellet S et Bellemare G. Les lésions précancéreuses de la vulve. *Union Med Canada* 1985;114:748
44. Van de Nieuwenhof HP, Bulten J, Hollema H, Dommerholt R, Massuger L, Van Der Zee A *et al.* Differentiated vulvar intraepithelial neoplasia is often found in lesions, previously diagnosed as lichen sclerosus, which have progressed to vulvar squamous cell carcinoma. *Modern Pathol* 2011;24:297-305
45. Liegl B and Regauer S. p53 immunostaining in lichen sclerosus is related to ischemic stress and is not a marker of differentiated vulvar intraepithelial neoplasia. *Histopathology* 2006;48:268-274
46. Carlson JA, Ambros R, Malfetano J, Ross J, Grabowski R, Lamb P *et al.* Vulvar lichen sclerosus and squamous cell carcinoma : a cohort, case control, and investigational study with historical perspective ; implication for chronic inflammation and sclerosis in the development of neoplasia. *Hum Pathol* 1998;29(9):932-48
47. Van De Nieuwenhof HP, Massuger LF, Van Der Avoort I, Bekkers RLM, Casparieb M, Abma W *et al.* Vulvar squamous cell carcinoma development after diagnosis of VIN increases with age. *Eur J Cancer* 2009;45:851-856

48. Van De Nieuwenhof HP, Van Kempen L.C, De Hull J.A, Bekkers R.L, Bulten J, Melchers W.J *et al.* The etiologic role of HPV in vulvar squamous cell carcinoma fine tuned. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* July 2009;18(7):2061-2067
49. Cannavo I. Génotypage HPV sur tissus fixés et inclus en paraffine : optimisation de la technique. Thèse de doctorat en médecine, sous la direction du professeur Giordanengo, Nice, 2011.
50. Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, De Sanjosé S, Franceschi S *et al.* Human papillomavirus types in 115 789 HPV-positive women : a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer* 2012;131(10):2349-2359
51. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P and Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide : a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:467-73
52. Insinga RP, Liaw KL, Johnson LJ and Madeleine MM. A systematic review of the prevalence and attribution of human papillomavirus types among cervical, vaginal and vulvar pre-cancers and cancers in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008 july;17(7):1611-1622
53. Clifford G and Franceschi S. Members of the human papillomavirus type 18 family (a-7 species) share a common association with adenocarcinoma of the cervix. *Int J Cancer* 2008;122:1684-5
54. Srodon M, Stoler MH, Baber GB and Kurman RJ. The distribution of low and high-risk HPV types in vulvar and vaginal intraepithelial neoplasia (VIN and VaIN). *Am J Surg Pathol* 2006;30:1513-1518
55. Louie K, Didelot M-N, Damay A, Nagot N, Mayaud P et Segondy M. Papillomavirus humains (HPV) et cancers associés : aspects épidémiologiques. *Revue francophone des laboratoires* sept-oct 2008;405:27-34
56. Riethmuller D et Seilles E. Immunité muqueuse du tractus génital et mécanismes d  vasion des Papillomavirus. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2000;29:729-740
57. Frisch M, Biggar RJ and Goedert JJ. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst* 2000 Sep;92(18):1500-10
58. Riethdorf S, Neffen EF, Cvida A, L ning T, Crum C and Riethdorf L. p16INK4A expression as biomarker for HPV 16-related vulvar neoplasia. *J Hum Pathol* 2004 Dec;35(12):1477-83
59. Van Seters M, Ten Kate FJW, Van Beurden M, Verheijen RHM, Meijer CJLM, Burger MPM *et al.* In the absence of (early) invasive carcinoma, vulvar intraepithelial neoplasia associated with lichen sclerosus is mainly of undifferentiated type : new insights in histology and aetiology. *J Clin Pathol* 2007;60:504-508
60. McNally OM, Mulvany NJ, Pagano R, Guinn MA and Rome RM. VIN 3 : a clinicopathological review. *Int J gynecol Cancer* 2002;12:490
61. Pl nat F, Montagne K et Weinbreck N. Les conséquences moléculaires de la fixation et de l'inclusion : exemple des acides nucléiques et des protéines. *Annales de Pathologie* 2006;26:8-21
62. Gargano JW, Wilkinson EJ, Unger ER, Steinau M, Watson M, Huang Y *et al.* Prevalence of human papillomavirus types in invasive vulvar intraepithelialneoplasia 3 in the United States before vaccine introduction. *J Low Genit Tract Dis* 2012 oct;16(4):471-479
63. Park JS, Jones RW, McLean MR, Currie JL, Woodruff JD, Shah KV *et al.* Possible etiologic heterogeneity of vulvar intraepithelial neoplasia. A correlation of pathologic characteristics with human papillomavirus detection by in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Cancer* 1991;67:1599-1607
64. Bryant D, Rai N, Rowlands G, Hibbitts S, Jones J, Tristram A *et al.* Human papillomavirus type distribution in vulvar intraepithelial neoplasia determined using PapilloCheck DNA microarray. *J Med Virol* 2011;83:1358-1361
65. Li H, Yang Y, Zhang R, Cai Y, Yang X, Wang Z *et al.* Preferential sites for the integration and disruption of human papillomavirus 16 in cervical lesions. *J Clin Virol* 2013;56:342-347
66. Alonso I, Fust  V, Del Pino M, Castillo P, Torn  A, Fust  P *et al.* Does human papillomavirus infection imply a different prognosis in vulvar squamous cell carcinoma ? *Gynecol Oncol* 2001;122:509-514
67. Gonçalves MA, Massad E, Burattini MN and Villa LL. Relationship between human papillomavirus (HPV) genotyping and genital neoplasia in HIV-positive patients of Santos City, Sao Paulo, Brazil. *Int J STD AIDS* 1999;10:803-807
68. Van Beurden M, De Craen AJ, De Vet HC, Blaauwgeers JL, Drillenburger P, Gallee MP *et al.* The contribution of MIB1 in the accurate grading of vulvar intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol* 1999;52:820-4
69. Wilkinson EJ, Friedrich EJ Jr and Fu YS. Multicentric nature of vulvar carcinoma in situ. *Obstet Gynecol* 1981;58:69-74

Table des matières

Remerciements	8
Introduction	12
1. HPV	12
1.1. Taxonomie et structure	12
1.2. Génome viral	12
1.3. Classifications	14
1.3.1. Classification phylogénétique	14
1.3.2. Classification en fonction du tropisme tissulaire	14
1.3.3. Classification en fonction du risque oncogénique	14
1.4. Epidémiologie	15
1.5. Cycle de réplication	16
1.5.1. Inoculation	16
1.5.2. Infection latente et productive	17
1.6. Mécanismes moléculaires de la cancérogénèse induite par HPV	18
1.6.1. Oncoprotéine virale E2	19
1.6.2. Oncoprotéine virale E6	19
1.6.3. Oncoprotéine virale E7	20
1.6.3.1. Voie de la protéine du rétinoblastome (Figure 3)	20
1.6.3.2. Effet de E7 sur la voie de la protéine du rétinoblastome (Figure 4)	21
1.7. Lésions vulvaires bénignes dues à HPV : les condylomes	22
2. Néoplasies intra-épithéliales vulvaires (VIN)	23
2.1. Définition et nomenclature	23
2.2. VIN classiques	25
2.2.1. Epidémiologie des VIN classiques	25
2.2.2. Clinique des VIN classiques	26
2.2.3. Histologie des VIN classiques	27
2.2.4. Analyse immunohistochimique des VIN classiques	28
2.2.4.1. Immunohistochimie p16	28
2.2.4.2. Immunohistochimie Ki67	28
2.2.5. Diagnostics différentiels	29
2.2.6. Evolution et pronostic des VIN classiques	29
2.2.7. Prise en charge d'une VIN classique	30
2.2.7.1. Examens paracliniques à réaliser devant une VIN classique	30
2.2.7.2. Prise en charge thérapeutique	30
2.2.8. Prévention des VIN classiques	31
2.3. VIN différenciées	32
2.3.1. Epidémiologie des VIN différenciées	32
2.3.2. Clinique des VIN différenciées	32
2.3.3. Histologie des VIN différenciées	32
2.3.4. Immunohistochimie des VIN différenciées	35
2.3.4.1. Immunohistochimie p16	35
2.3.4.2. Immunohistochimie Ki67	35
2.3.4.3. Immunohistochimie p53	35
2.3.5. Diagnostics différentiels des VIN différenciées	36
2.3.6. Evolution et pronostic des VIN différenciées	36
2.3.7. Traitement des VIN différenciées	37
3. Rationnel de l'étude	38

Matériels et Méthodes	39
1. Type d'étude et critères d'inclusion	39
2. Recueil des données	39
2.1. Recueil des données cliniques	39
2.2. Recueil des données histologiques	40
3. Technique de génotypage	41
3.1. Réalisation des coupes de paraffine	42
3.3. Déparaffinage (Figure 6)	43
3.4. Extraction d'ADN (Figure 7)	44
3.5. PCR	45
3.5.1. Principe	45
3.5.2. Préparation du milieu réactionnel tamponné de PCR	45
3.5.3. Etapes de la PCR	46
3.6. Système <i>PapilloCheck</i> ® (Greiner Bio-One)	47
3.6.1. Principe	47
3.6.2. Préparation du milieu réactionnel d'hybridation	48
3.6.3. Lavage (Figure 9)	48
3.6.4. Séchage (Figure 9)	49
3.6.5. Lecture	49
Résultats	53
1. Description de la population	53
1.1. Description des cas de VIN classique	54
1.1.1. Description des caractéristiques cliniques des cas de VIN classique	54
1.1.2. Caractéristiques cliniques des lésions de VIN classique	55
1.1.3. Lésions HPV-induites associées aux VIN classiques	56
1.1.4. Description histologique des lésions de VIN classique	57
1.1.5. Résultat de l'examen immunohistochimique p16 dans les VIN classiques	57
2. Résultats du génotypage HPV	59
2.1. Rendement du génotypage	59
2.2. Prévalence globale de l'infection à HPV	59
2.2.1. Prévalence de l'infection à HPV dans la VIN différenciée	59
2.2.2. Prévalence de l'infection à HPV dans les VIN classiques	60
2.3. Proportion des génotypes d'HPV dans les VIN classiques	61
2.3.1. Etude des sous-types histologiques de VIN HG	62
2.3.2. Etude du sous-groupe des poly-infectées	63
2.3.3. Résultat du génotypage en fonction du statut immunitaire	63
2.3.4. Résultat du génotypage en fonction d'une atteinte génitale extra-vulvaire associée due à HPV	63
2.4. Comparaison entre le génotypage HPV et p16	64
2.5. Comparaison du résultat du génotypage sur FCU et sur prélèvement vulvaire	64
Discussion	65
1. Résultats principaux	65
1.1. Prévalence de l'infection à HPV	65
1.2. Distribution des génotypes d'HPV	66
1.3. Confrontation du génotype HPV aux paramètres cliniques	68
1.4. Confrontation du génotype HPV aux paramètres histologiques	69
1.5. HPV et lichen scléreux	70
1.6. Confrontation des lésions vulvaires et cervicales	71
2. Evaluation des techniques	72
2.1. Résultats non contributifs	72
2.2. Résultats négatifs	74
3. Classification ISSVD 2005	76

4. Perspectives -----	77
Conclusion -----	78
Résumé -----	79
Bibliographie -----	80
Liste des tableaux -----	85
Annexes -----	86
Annexe 1. Iconographie de la patiente n°18 (Résultat du génotypage : HPV 16) -----	86
Annexe 2. Iconographie de la patiente n°20 (Résultat du génotypage : HPV 16) -----	87
Annexe 3. Iconographie de la patiente n°22 (Résultat du génotypage : HPV 16). -----	88
Annexe 4. Iconographie de la patiente n°21 (Résultat du génotypage : HPV 16). -----	89
Serment d'Hippocrate -----	90

Liste des figures

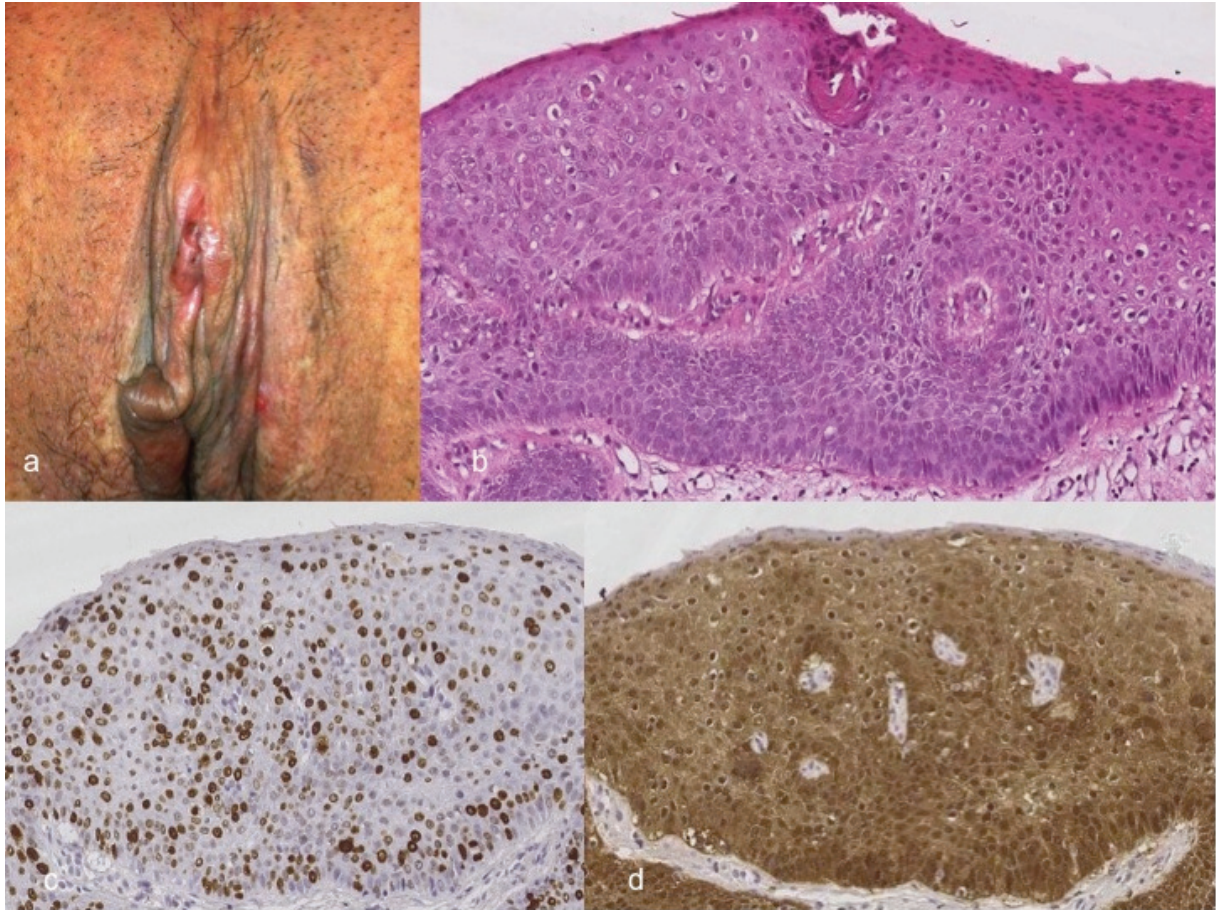
Figure 1. Génome du papillomavirus d'après ENS Lyon -----	13
Figure 2. Cycle de réplication viral (modifié d'après Thomas) ¹⁵ -----	18
Figure 3. Voie de la protéine du rétinoblastome -----	20
Figure 4. Effet de l'oncoprotéine E7 sur la voie de la protéine du rétinoblastome -----	21
Figure 5. VIN différenciée (HESx70) -----	34
Figure 6. Lyse cellulaire et déparaffinage -----	43
Figure 7. Extraction d'ADN par l'Easymag® d'après Docteur Cannavo ⁴⁹ -----	44
Figure 8. Puce <i>PapilloCheck</i> ® d'après docteur Cannavo ⁴⁹ -----	47
Figure 9. Hybridation <i>PapilloCheck</i> ® puis lavage et séchage -----	49
Figure 10. Contrôles fluorescents dans la longueur d'onde verte de la puce <i>PapilloCheck</i> ® -----	50
Figure 11. Contrôles fluorescents dans la longueur d'onde rouge de la puce <i>PapilloCheck</i> ® -----	51
Figure 12. Exemples de résultats sur puce <i>PapilloCheck</i> ® -----	52
Figure 13. Description histologique des VIN classiques -----	57
Figure 14. Distribution des principaux génotypes d'HPV -----	62

Liste des tableaux

Tableau 1. Rôle des principales protéines du virus HPV -----	13
Tableau 2. Evolution de la terminologie histologique de la classification des VIN (tableau modifié d'après Plantier) ²⁵ -----	23
Tableau 3. Protocole de PCR -----	46
Tableau 4. Description de la population présentant une VIN classique. -----	54
Tableau 5. Description clinique des lésions de VIN classique -----	55
Tableau 6. Eventuelles lésions HPV-induites associées -----	56
Tableau 7. Distribution des types d'HPV dans les VIN classiques -----	61

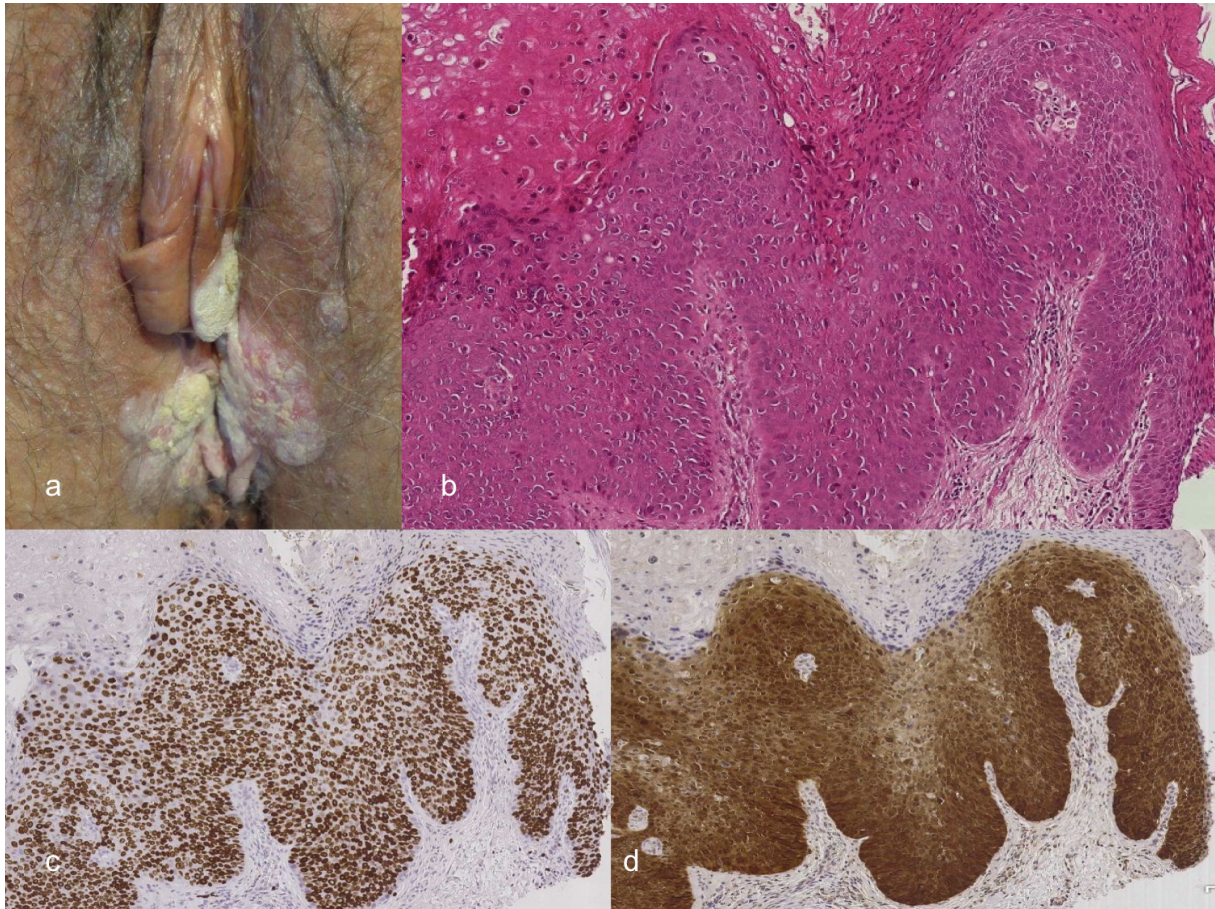
Annexes

Annexe 1. Iconographie de la patiente n°18 (Résultat du génotypage : HPV 16)



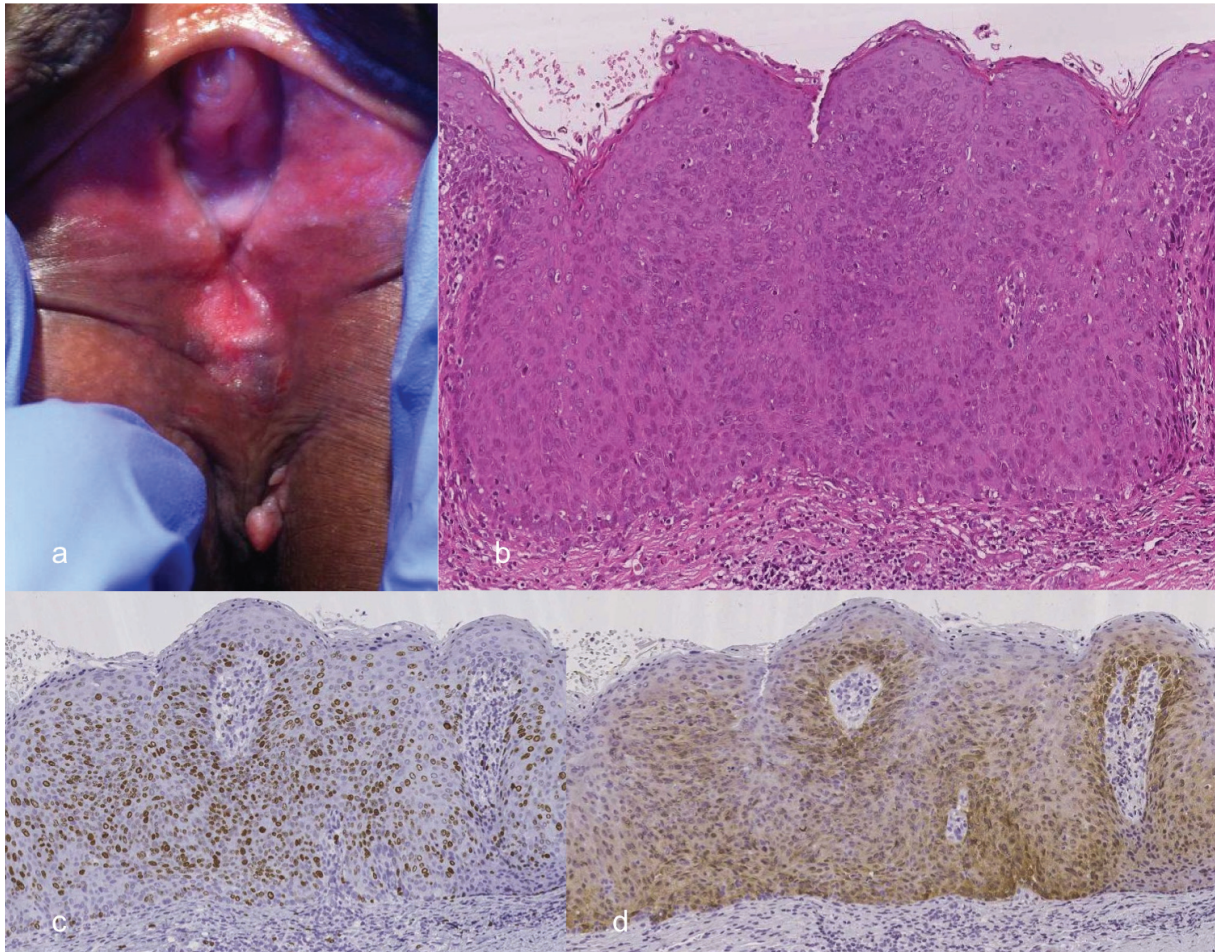
- a. Lésion érythémateuse et pigmentée du capuchon clitoridien (photographie transmise par le Docteur Angeli)
- b. VIN HG de sous-type basaloïde. Acanthose avec koïlocytes, cellules dyskératosiques et parakératose (HESx100).
- c. Immunomarquage Ki67. Marquage nucléaire de toute la hauteur de l'épithélium (x100).
- d. Immunomarquage p16. Marquage cytoplasmique et nucléaire intense de toute la lésion (x100).

Annexe 2. Iconographie de la patiente n°20 (Résultat du génotypage : HPV 16)



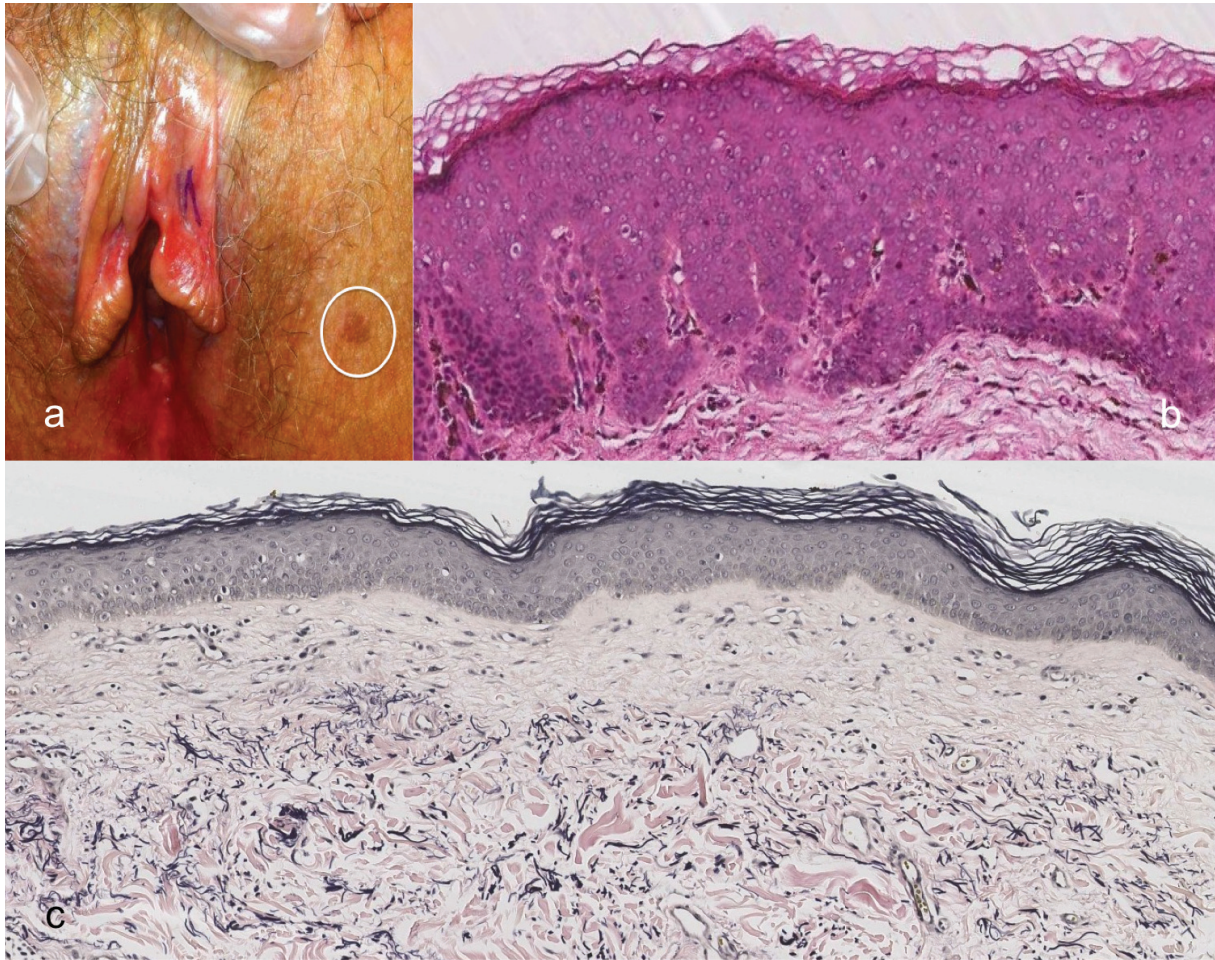
- a. Lésion leucoplasique de la fourchette et de la petite lèvre gauche (photographie transmise par le Docteur Angeli).
- b. VIN HG de sous-type bowénoïde. Lésion papillomateuse acanthosique avec atypies marquées, koïlocytes et nombreuses cellules dyskératosiques. Hyperkératose majeure avec parakératose (HESx20).
- c. Immunomarquage Ki67. Marquage nucléaire sur toute la hauteur de l'épithélium (x20).
- d. Immunomarquage p16. Marquage cytoplasmique et nucléaire intense de toute la lésion (x20).

Annexe 3. Iconographie de la patiente n°22 (Résultat du génotypage : HPV 16).



- a. Lésion verruqueuse de la fourchette vulvaire focalement érosive, associée à une lésion polypoïde de l'anus correspondant à une AIN (photographie transmise par le Docteur Angeli).
- b. VIN HG de sous-type bowénoïde. Papillomatose avec atypies, koilocytes et nombreuses cellules dyskératosiques. Légère parakératose. Infiltrat inflammatoire dermique lymphocytaire (HESx100).
- c. Immunomarquage Ki67. Marquage nucléaire de toute la hauteur de l'épithélium (x100).
- d. Immunomarquage p16. Marquage cytoplasmique et nucléaire intense linéaire horizontal continu de toute la lésion (x100).

Annexe 4. Iconographie de la patiente n°21 (Résultat du génotypage : HPV 16).



- a. Lésion maculeuse pigmentée du sillon génito-crural (zone cerclée sur la photographie). Suspicion clinique de lichen scléreux sur prurit périnéal et dyspareunie (photographie transmise par le Docteur Angeli).
- b. VIN HG de sous-type basaloïde. Papillomatose avec prolifération de petites cellules monomorphes. Présence de mélanophages dermiques superficiels donnant l'aspect clinique pigmenté (HESx100)
- c. Coloration de Verhoeff (réalisée sur un prélèvement de la zone marquée au feutre de la petite lèvre gauche). Disparition des fibres élastiques du derme superficiel au niveau d'une bande discrètement fibro-hyaline authentifiant le lichen scléreux (x100).

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leur famille dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.